

SYNTHESE D'UNE DIAMINO-DICHLORO-QUINONE

TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES

Préparation du TP : regarder les vidéos :

<https://podv2.unistra.fr/video/46760-preparation-dune-colonne-chromatographique-de-silice/>

&

<https://podv2.unistra.fr/chimie/gestes-techniques-travaux-pratiques/video/46859-purification-sur-une-colonne-chromatographique-de-silice/>

&

Se reporter au manuel de TP , pages 24 à 27

Données de sécurité :

Composé	Densité	T _{fus} / T _{éb}	Sécurité	
Tetrachloro-1,4-benzoquinone	-	T _{fus} = 122,3°C T _{éb} = 250°C		H315 H317 H318 H410
Ammoniaque concentré	1,04	T _{fus} = - 15°C T _{éb} = 205°C		H314 H335 H410
Ether de pétrole	0,67	60-80		H304 H315 H336 H411
Acétate d'éthyle	0,71	T _{fus} = - 116°C T _{éb} = 35°C		H225 H319 H336 EUH066
2,5-diamino-3,6-dichloro-1,4-benzoquinone	-	T _{fus} = 360°C		H301 H411

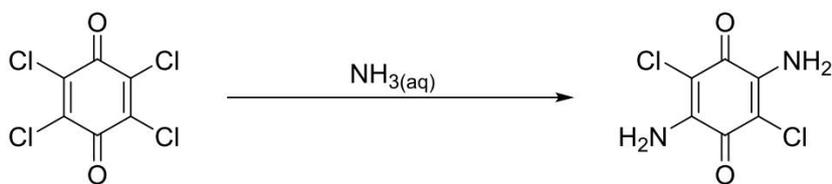
Objectifs :

Le but de ce TP est d'illustrer, autour d'une synthèse organique, l'intérêt des méthodes chromatographiques, tant en analyse (vérification de pureté par CCM) , en suivi de réaction (terminée ou pas), qu'en purification du produit obtenu, (chromatographie colonne). **Ces 3 techniques seront à garder en mémoire, et à réaliser (CCM), ou évoquer (chromatographie colonne) dans les comptes-rendus de chimie organique en concours .**

Le principe de la séparation en chromatographie repose sur la différence de polarité ou de proticité*, des espèces présentes dans un mélange, induisant une différence d'affinité entre une phase FIXE polaire et protique : le gel de silice, et une phase MOBILE moins polaire et moins protique : l'éluant, qui migre le long de la phase fixe, par capillarité en CCM (montant), ou gravité en colonne (descendant).

Proticité : capacité à établir des liaisons H*

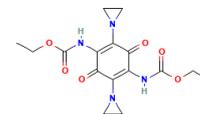
I- LA REACTION DE SYNTHÈSE : MISE EN ŒUVRE



tetrachloro-1,4-benzoquinone
solide jaune

2,5-diamino-3,6-dichloro-1,4-benzoquinone
solide pourpre

Cette réaction est une réaction modèle de la première d'une série de réactions qui permettent d'obtenir l'AZQ (diaziqone), un médicament de chimiothérapie :



- Peser environ 0,10 g de tétrachloro-1,4-benzoquinone ($M = 245,88 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dans un bécher de 10 mL.
- Ajouter 1 mL (pipette pasteur) d'acétate d'éthyle. Agiter le mélange (le solide est non soluble), et ajouter doucement 3 gouttes (excès) d'ammoniaque concentré (pipette pasteur plastique) .
- Recouvrir le bécher d'un petit verre de montre et laisser le mélange réagir, sous agitation **lente**, pendant la préparation de la colonne de chromatographie.

L'éluant utilisé dans tout le protocole est un mélange 4 :1 d'éther de pétrole 60°- 80° et d'acétate d'éthyle.

- **Préparer 150 mL d'éluant, dans un erlen de 250 mL (ouverture rodée)** , que l'on maintiendra systématiquement fermé hors utilisations.

II- PREPARATION DE LA COLONNE DE CHROMATOGRAPHIE

Voir schéma du montage en annexe, figure 1.

- Verser environ 1 cm de sable de Fontainebleau au dessus du verre fritté **(1)**.
- Fixer la colonne verticalement à l'aide du fixe-burette à disposition sur la paillasse. Placer un bécher poubelle dessous.
- Introduire délicatement, robinet fermé , à la Pipette Pasteur Plastique (PPP) , de l'éluant, à hauteur du sable.
- Sous la hotte , peser 5g de gel de silice (éviter de respirer les poussières) dans un bécher de 50 mL. Y ajouter 15 à 20 mL d'éluant. Agiter à l'aide d'une baguette en verre pour homogénéiser, et faire partir toutes les bulles d'air.

ATTENTION : dans tout ce qui suit, il faudra veiller à ne pas sécher la silice, c'est-à-dire qu'il devra **TOUJOURS** y avoir un surnageant d'éluant au-dessus de la silice, dans la colonne, ou que l'éluant soit au ras de la silice, **JAMAIS EN DESSOUS**.

- Placer un entonnoir en haut de la colonne, et la remplir à l'aide du "lait de silice" en aidant la silice à sortir du bécher à l'aide de la spatule pendant le remplissage (car la silice dense reste au fond du bécher sinon). Ouvrir le robinet en bas de la colonne dès que nécessaire, pour éviter tout débordement. Si de la silice reste au fond du bécher, rajouter de l'éluant dans le bécher et poursuivre le remplissage **(2)**.
- A l'aide d'éluant et d'une pipette pasteur, rincer les parois de la colonne pour ramener toute la silice au fond.
- Vider l'excédent d'éluant au-dessus de la silice jusqu'à 2 à 3 cm au-dessus de la silice **(4)**.
- A l'aide d'un gros bouchon en caoutchouc, tapoter tout le long de la colonne pour homogénéiser/tasser la silice et faire remonter l'éluant. Quand les niveaux sont stabilisés, réajuster le surnageant d'éluant jusqu'à 2 à 3 cm au-dessus de la silice **(4)**.
- Ajouter alors 0,5 à 1 cm de sable **(3)**, sans abimer la surface de la silice. (cette étape est facultative, mais elle permet l'introduction plus facile de l'échantillon à séparer, qui doit être introduit en une couche régulière, horizontale).

III- FILTRATION DU MELANGE REACTIONNEL

Vous constaterez que la réaction n'est pas totale : **il reste du réactif solide**, peu/pas (?) soluble. Si le réactif n'est pas soluble, tout est parfait : la solution ne contiendrait que le produit. Mais s'il est un peu soluble il faudra purifier. **La chromatographie** répondra à la question. MAIS, cette technique **nécessite des mélanges LIQUIDES**. Il faut donc **filtrer le brut réactionnel**, pour se débarrasser de l'excès de réactif solide, avant de procéder à la chromatographie d'analyse :

- Placer un entonnoir en verre au-dessus d'un bécher de 10 mL. Y placer un filtre papier (plié en 4), imbibé d'acétate d'éthyle. Filtrer le brut réactionnel. Le filtrat sera nommé **brut filtré** dans la suite.

IV- ANALYSE ET SEPARATION SUR COLONNE

1- Analyse en CCM du mélange réactionnel

1- Préparer une cuve d'éluant :

- Préparer un papier filtre de la hauteur de la cuve – 1 cm, et d'une largeur = moitié du périmètre du bécher. Le placer à l'intérieur du bécher, contre la paroi.
- Verser l'éluant sur le papier pour l'imbiber totalement, et obtenir un fond d'éluant de 0,5 cm au fond de la cuve. Fermer la cuve à l'aide du couvercle fourni (boîte de pétri en verre).

Le rôle de ce papier filtre est de SATURER la cuve de vapeurs d'éluant, de sorte que celui-ci migrera le long de la plaque de silice, sans s'en évaporer, ce qui accélère l'éluant.

2- Préparer les échantillons à déposer :

Tout échantillon à analyser doit être préalablement DILUE, qu'il soit liquide ou solide à l'origine. En effet, l'éluant joue aussi un rôle de solvant : si l'échantillon est trop concentré (ou pur !) , il se diluera dans l'éluant de sorte que la tâche déposée enflera gravement lors de l'éluant (par dissolution) et rendra l'analyse impossible ...

Le solvant de dilution doit être :

- 1) un bon solvant !
- 2) très volatil pour s'évaporer après dépôt

En conséquence, le diéthyl éther est envisageable en toutes circonstances (1° choix) . L'éluant peut aussi jouer ce rôle si nécessaire, ou le solvant de la réaction s'il est volatil.

- Préparer 2 Tubes A Hémolyse (TAH) :
 - Dans l'un, quelques cristaux du réactif + 1 à 2 mL d'**acétone** (propanone) . Agiter pour dissoudre. Ce tube sera un échantillon de référence (réactif).
 - Dans l'autre, 2 gouttes du brut filtré (déjà dilué), et 1 mL d'**acétate d'éthyle**.

3- Préparer la plaque de chromatographie :

- Sur une plaque de chromatographie, marquer le niveau de dépôt à l'aide un trait TRES léger de crayon à papier (type GRAS) , à 1 cm au moins du bas de la plaque. **NE PAS GRAVER !!!**
- Déposer à l'aide d'un capillaire, très brièvement, pour obtenir une tache la plus petite possible de l'échantillon de référence. **Laisser évaporer le solvant**, avant de refaire un dépôt. On peut réaliser ainsi 3 à 4 dépôts.
- Déposer, de même, en 3 à 4 dépôts, l'échantillon du brut filtré.
- Vérifier sous la lampe UV que les échantillons soient nettement visibles. Sinon, superposer d'autres dépôts.

4- Elution et révélation :

- Mettre la plaque à éluer dans la cuve. Couvrir, **et ne plus bouger la cuve**.
- Laisser éluer jusqu'à ce que le front d'éluant atteigne AU PLUS 1 cm sous le haut de la plaque : 
- Dès que l'éluant est terminée, se munir d'un crayon à papier, dans votre main directrice. Sortir la plaque à l'aide de l'autre main et AUSSITOT, marquer le niveau du front d'éluant.
- Sécher la plaque (sous la hotte ou le boa, à l'aide d'un sèche-cheveux si nécessaire).
- Révéler sous UV et entourer les taches au crayon à papier.

5- Analyse :

- Analyser la pureté du milieu réactionnel : la réaction a-t-elle eu lieu ? La réaction est-elle totale ? le produit est-il pur ? CONCLURE. PROPOSER...
- CALCULER les rapports frontaux ET JUSTIFIER LEURS VALEURS RELATIVES.

MAIS la CCM est aussi une préparation à la séparation par chromatographie colonne. Il faut donc aussi :

- Analyser la qualité de la séparation : **Voir manuel de TP , p 26**
 - Séparation optimale ? OK
 - Bonne séparation et $R_f < 0,4$? OK
 - Aucun des 2 cas précédents
- CONCLURE sur la possibilité d'une séparation en chromato colonne. Sinon, proposer de rechercher un autre éluant plus séparateur, ou moins polaire. Eventuellement proposer un deuxième éluant plus polaire (pour contre-carrer la fixation par la silice), à utiliser après élimination de la première espèce (réactif), pour pouvoir extraire la deuxième espèce (produit souhaité) de la colonne.

2- Purification du produit par chromatographie colonne

Dépôt du mélange à purifier

- Ajouter (car évaporation trop importante) **de l'éluant** au mélange réactionnel **brut filtré**. On en souhaite un volume de 1 mL , maximum 1,5 mL .
- Ajuster le niveau d'éluant dans la colonne de façon à affleurer la surface du sable.
- A l'aide d'une PPP, prélever **tout le brut filtré**, et en réaliser le dépôt en haut de la colonne, le plus près possible de la surface du sable, en touchant la paroi de la colonne avec l'extrémité de la pipette, et faisant pivoter circulairement l'extrémité de la pipette sur la paroi de manière à obtenir un dépôt circulaire fin et uniforme :
- Ouvrir le robinet de la colonne jusqu'à assèchement du sable (et pas de la silice !) pour que le dépôt pénètre dans la couche d'adsorbant. S'il y a une quantité importante à déposer, faire pénétrer entre chaque dépôt.
- Si besoin, ajouter à l'aide d'une PPP, le minimum d'éluant de façon à laver les parois. Faire à nouveau pénétrer dans l'adsorbant.
- Ajouter quelques cm d'éluant à l'aide d'une PPP, en contact avec les parois de la colonne comme pour le dépôt du brut. Les ajouts ultérieurs pourront être effectués plus rapidement à l'aide d'un entonnoir et d'un erlen meyer, mais en veillant à ne pas perturber la surface de l'adsorbant (le sable étant là en sécurité)

Elution

- Préparer une douzaine de TAH, en les numérotant, de 1 à 12. Les placer dans un porte-tubes, sous la colonne de chromatographie, la colonne étant dans le tube 1 pour 1 à 2 mm. Utiliser un support élévateur pour l'ajustement. (voir schéma du montage en annexe, figure 2)
- Le premier TAH étant sous la colonne, au ras interne, régler le débit en bas de la colonne à raison de 1 ou 2 gouttes par seconde.
- Recueillir des fractions de volume constant (jusqu'à 1 cm du haut environ) dans tous les tubes numérotés.

Suivi de la chromatographie

Au cours d'éluion, ou en fin complète de l'éluion, chaque fraction est analysée par CCM afin d'y identifier les composés présents. On pourra analyser 3 fractions sur une seule et unique plaque (soit 4 plaques de CCM) . Révéler sous UV.

(en fonction du temps)

Réunir les fractions ne contenant que le produit pur DE TOUS LES GROUPES. Le solvant pourra alors éventuellement être éliminé à l'évaporateur rotatif pour obtenir le produit purifié.

V-RECHERCHE DE LA DUREE OPTIMALE SOUS REFLUX POUR UNE REACTION TOTALE

A température ambiante, la réaction n'est donc pas totale. On peut tenter de la réaliser sous reflux dans l'espoir de la rendre totale.

On peut alors suivre l'évolution du brut réactionnel par CCM, et ainsi arrêter la réaction dès que celle-ci est totale (à retenir, si l'énoncé vous dit : "laisser au reflux jusqu'à ce que la réaction soit totale" <=> suivre l'évolution par CCM !)

1. Dans un ballon bicol de **micro verrerie**, introduire 5 billes de verre, 0,1 g de tétrachloro-1,4-benzoquinone, **3 mL** d'acétate d'éthyle, et 3 gouttes d'ammoniac concentré.
2. Réaliser le montage sous reflux , à l'aide d'un bec bunsen électrique : **on n'utilise pas d'élévateur** dans le cas d'un bec bunsen : en effet on DECALE le « bec » pour arrêter le chauffage.
3. Amener au reflux (régler le bec bunsen sur le thermostat 4) .
4. Dès l'ébullition commençante, décaler le bec, attendre que l'ébullition cesse, et prélever 0,5 à 1 mL du brut à la PPP . Déposer 2 gouttes dans un des creux de la plaque en porcelaine à creux de dépôts. Remettre le reste dans le ballon, et remettre le chauffage. Jeter la PPP.
5. Diluer les 2 gouttes dans un mL d'acétate d'éthyle. Faire un dépôt au capillaire sur une plaque de chromatographie. Mettre la plaque à éluer pendant que la réaction continue. Révéler la plaque.
 - o Si l'analyse montre que la réaction n'est pas terminée, répéter les points 4 (noter le temps au moment du prélèvement) et 5.
 - o Si l'analyse montre que la réaction est totale, arrêter la réaction, et noter le temps nécessaire pour rendre la réaction totale, sous reflux.
 - o Si l'analyse montre que la réaction n'est toujours pas totale au bout de 30 minutes, arrêter néanmoins.

QUESTIONS :

- Rappeler le mécanisme de substitution nucléophile SN1 et SN2 par l'ammoniac en excès, sur un dérivé halogéné secondaire. Justifier qu'aucun de ces mécanismes ne convient pour justifier la transformation réalisée ici.
- Montrer que le réactif présente des formes mésomères.
- En déduire un mécanisme probable pour cette réaction. Comment nomme-t-on un tel mécanisme ?
- La technique de purification par chromatographie colonne est-elle adaptée aux espèces liquides ? solides ? les deux ? Justifier.
- Quels sont les inconvénients de la méthode de purification par chromatographie ?
- Que proposez-vous pour augmenter / diminuer le R_f d'une espèce ? Justifier précisément.
- Lors d'une synthèse, le brut réactionnel contient le produit souhaité, présentant un R_f de 0,05, et une impureté de $R_f = 0,9$. Décrire le procédé de purification optimal du produit d'intérêt par chromatographie colonne.
- Commenter la synthèse organique réalisée au § V, ainsi que le résultat de son suivi.

A RETENIR :

Dans ce TP, le protocole de l'analyse par CCM est anormalement développé. En concours, le paragraphe IV-1 sera résumé en une ligne : "procéder à une CCM du produit brut à l'aide de l'éluant fourni". A vous de réaliser de façon autonome les points 1 à 5, techniquement et analytiquement...

ANNEXE : MONTAGE DE CHROMATOGRAPHIE COLONNE

FIGURE 1

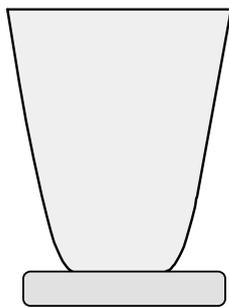
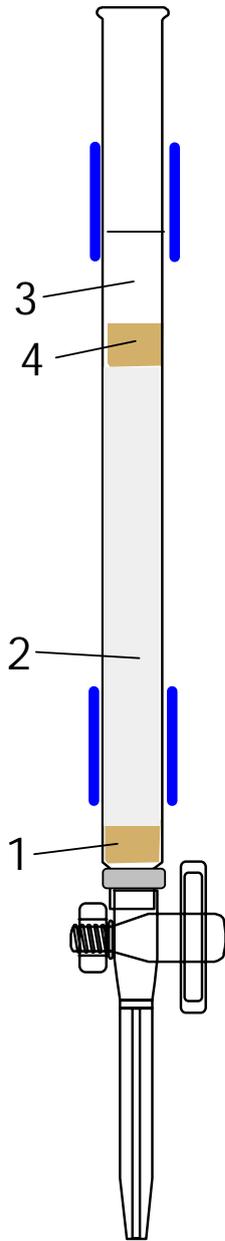


FIGURE 1

FIGURE 2

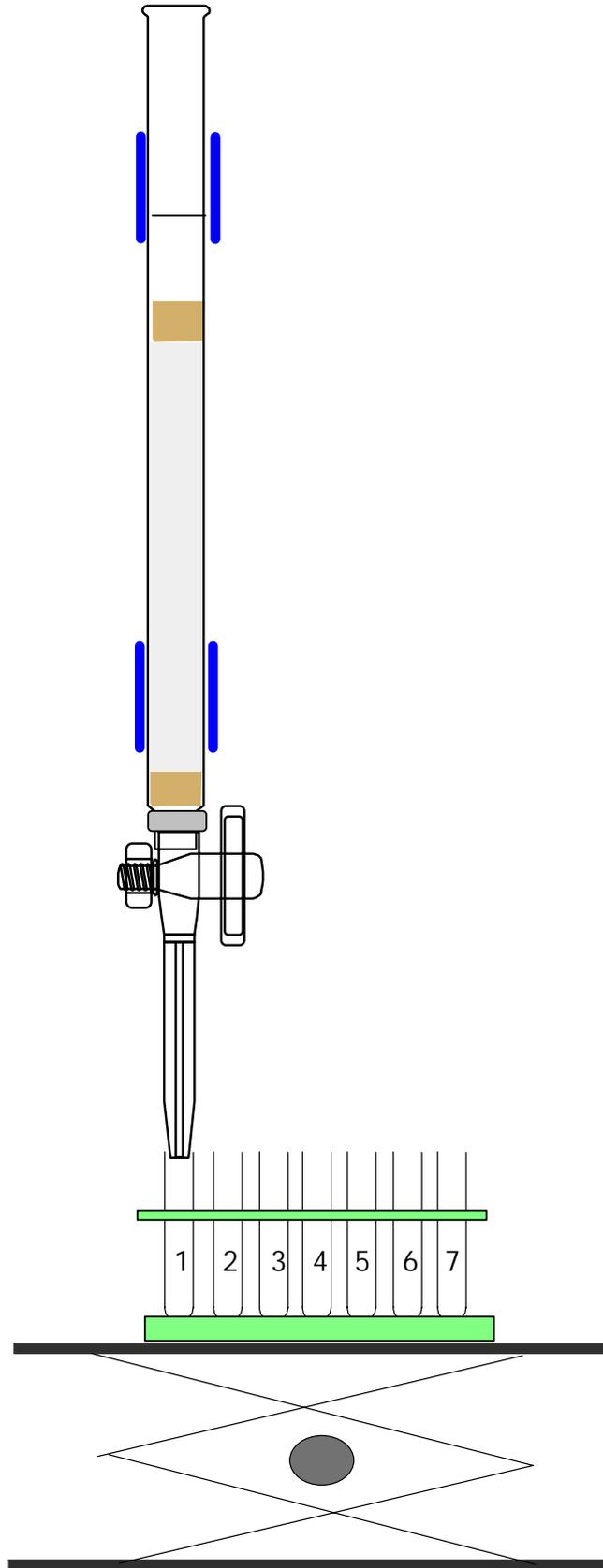


FIGURE 2