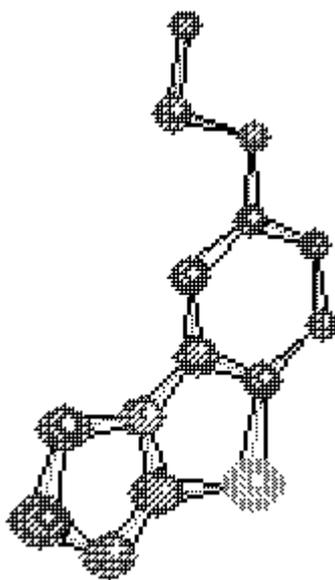


# OLIVE Gilles

Rapport de stage



Unité associé 1410 "Reactivité et Catalyse"  
Groupe: "Stéréochimie Dynamique et Chiralité"

**Licence de Chimie Moléculaire**  
**Année:1991**

La quête scientifique  
a cela de remarquable qu'elle  
pousse sans cesse l'homme  
à se dépasser.

(Blaise PASCAL)

Objet: Ce stage d'information a été effectué dans un laboratoire de la faculté de S<sup>T</sup> Jérôme du 10/06/91 au 14/06/91.

L'unité associée 1410 (U.A. 1410) est le nom de ce laboratoire et cela signifie qu'il est associé au Comité National de la Recherche Scientifique, ce qui veut dire que mon stage s'est déroulé dans un groupe de Recherche. L'objectif suivi dans la rédaction de ce rapport est de décrire, les différentes activités du groupe, leurs problèmes et ce qui en découlera à plus ou moins long terme.

Remerciements: Je voudrais remercier Monsieur Christian ROUSSEL, du formidable accueil qu'il m'a réservé et de l'intérêt qu'il a bien voulu m'accorder.

Je remercie aussi l'ensemble de ses collaborateurs de m'avoir accordé un peu de leur temps et d'avoir répondu aimablement à mes questions.

G. OLIVE

## SOMMAIRE

SOMMAIRE .....	2
<b><u>I) Présentation succincte du groupe</u></b> .....	3
1) <u>Le groupe lui-même</u> .....	3
2) <u>Les moyens mis à la disposition des chercheurs</u> .....	5
3) <u>Vie du laboratoire</u> .....	6
4) <u>Reflexion sur la recherche: la démarche expérimentale</u> .	7
<b><u>II) Les synthèses organiques</u></b> .....	8
1) <u>Les Thiazolinethiones achirales</u> .....	8
2) <u>Synthèse des thiazolinethiones et des thiazolineones chirales</u> .....	9
3) <u>Oxydation du CD<sub>3</sub></u> .....	12
4) <u>Acylation des alcènes</u> .....	14
<b><u>III) La chromatographie chirale</u></b> .....	16
1) <u>Plan d'expérience</u> .....	16
2) <u>Dérivé de la cyclodextrine</u> .....	17
3) <u>Chromatographie chirale semie préparative</u> .....	18
<b><u>IV) Le projet CHIRBASE®</u></b> .....	20
<b><u>V) CONCLUSION</u></b> .....	22
1) <u>Sur le stage</u> .....	22
2) <u>Personnelle</u> .....	22
ANNEXES .....	23

## I) Présentation succincte du groupe

### 1) Le groupe lui-même

J'ai effectué mon stage dans le groupe de Monsieur le Professeur C. ROUSSEL. Il appartient au groupe "Stéréochimie Dynamique et Chiralité" de l'unité associée 1410 nommé "Réactivité et Catalyse".

Il se situe au 3<sup>ème</sup> étage à l'ENSSPICAM dans l'ancien ESIPSOI.

Son groupe compte à ce jour 8 personnes sans compter les DEA, dont un seul poste est permanent (le Professeur ROUSSEL, lui-même). Le groupe "Stéréochimie Dynamique et Chiralité" créé en 1975 est financé:

- soit par le CNRS,
- soit par le Ministère de l'Education Nationale et de la Recherche.

Il reçoit aussi des financements sous forme de contrat ou bourse de recherche et depuis peu des contrats de licence de la base de donnée CHIRBASE<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Expliqué au Chapitre IV p 20

J'ai noté trois axes au groupe qui sont :

- les synthèses chirales,
- les phases stationnaires chromatographiques chirales,
- et enfin le projet CHIRBASE©.

Fait exceptionnel, cette année, on dénombre plus de synthèse achirale que de synthèse chirale.

## 2) Les moyens mis à la disposition des chercheurs

Le matériel commun à toutes les équipes est à la disposition de tous les chercheurs. A l'ENSSPICAM, le laboratoire a la possibilité d'utiliser les appareils suivants:

- Appareil à Infra-Rouge
- RMN 60MHz du proton (accès à un 400 MHz sur le campus de la Faculté)
- Spectromètre UV

en plus du matériel qui lui est propre:

- Microordinateurs avec logiciel de traitement de textes , de gestion de fichier , CHEMBASE© et CHEMTEXT©.
- Chromatographie "Flash" : séparation sur colonne de silice, le solvant est poussé par de l'azote (temps moyen de séparation ½ heure)
- Chromatographie sur Triacétylcellulose microcristalline (TAC): Chromatographie sur phase chirale avec un détecteur UV et un polarimètre à la sortie de la colonne. Un système électronique permet de séparer et de recueillir les produits après résolution. Un recyclage des produits est donc possible.

### 3) Vie du laboratoire

C'est le directeur du labo (M<sup>r</sup> ROUSSEL) qui décide et dirige toutes les activités avec la double préoccupation que celles-ci soient coordonnées et définies dans le cadre de ses recherches.

Chaque chercheur a un sujet de recherche bien déterminé qu'il devra exploiter au maximum. M<sup>r</sup> ROUSSEL s'efforce de prendre connaissance le plus souvent possible de l'avancement des recherches. Du reste la plus grande attention est faite aux suggestions des chercheurs à la suite d'échange de vues.

L'effectif du labo est le suivant :

- M<sup>lle</sup> L. De Lumley-Woodyear, stage de DEA
- M<sup>lle</sup> N. Escuer, stage de DEA
- M<sup>lle</sup> A. Favrou, thèse
- M<sup>r</sup> G. Fremy, stage de DEA
- M<sup>me</sup> H. Pierrot, employée temporaire
- M<sup>r</sup> P. Piras, thèse
- M<sup>me</sup> C. Popescu, stage étranger
- M<sup>r</sup> J.L Stein, professeur à contrat pédagogique
- M<sup>r</sup> C Teregrossa, stage de DEA

Parallèlement aux recherches, une ouverture avec le monde

extérieur est indispensable. Elle se traduit par la rédaction de nombreuses notes ou publications et par un important réseau de relations internationales: échange de chercheurs, visites et séjours de personnalités scientifiques, ainsi que la coopération avec les pays en voie de développement.

#### 4) Reflexion sur la recherche: la démarche expérimentale

Le stage que j'ai suivi m'a fait passer en revue les procédés que met en oeuvre la connaissance scientifique: hypothèses, raisonnements, expériences. Il m'a montré le rôle que joue l'esprit dans l'organisation de cette connaissance et l'importance des idées en recherche expérimentale.

L'idée est fondamentale car c'est elle qui provoque l'expérience. Expérimenter sans idée initiale est absolument infructueux. Une hypothèse peut prendre naissance à partir d'un fait observé, d'une expérience, ou alors simplement être rattachée à une théorie. Dans tous les cas elle doit être fondée et vérifiable expérimentalement. Une fois confirmée par l'expérience, elle devient une vérité (partielle).

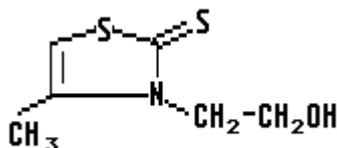
La recherche expérimentale repose sur la répétition d'un phénomène quand toutes les conditions où il avait pris naissance sont recréées. L'expérimentateur doit donc faire preuve d'observation et de rigueur.

## II) Les synthèses organiques

Cette année le nombre de synthèse achirale est supérieur au nombre de synthèse chirale. Certaines sont des mises aux points dont les produits serviront plus tard de synthons chiraux.

### 1) Les Thiazolinethiones achirales

Après une importante recherche bibliographique, M<sup>lle</sup> N. ESCUER, jeune vénézuélienne en DEA, n'a rien trouvé sur la synthèse de:



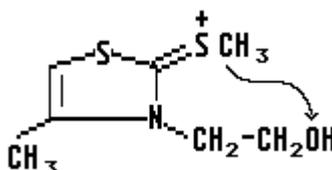
Selon le même processus réactionnel utilisé par M<sup>r</sup> G. FREMY<sup>2</sup>, ce corps a bien été obtenu avec malheureusement des sous produits. La séparation de ces sous produits se fait par chromatographie liquide flash et leurs identifications est faites en CCM et RMN.

Pour expliquer la formation de ces "impuretés", M<sup>lle</sup> N. ESCUER a fabriqué les dérivés SH, OCH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub> à la place du OH. La synthèse des dérivés OCH<sub>3</sub> et SCH<sub>3</sub> marche à

---

<sup>2</sup> Voir page 9, 10

100%. Le dérivé méthoxylé a été identifié comme une des impuretés provenant d'un transfert intramoléculaire:



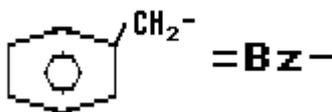
Il ne reste plus qu'à identifier un corps présent à une concentration de 3% dans le milieu.

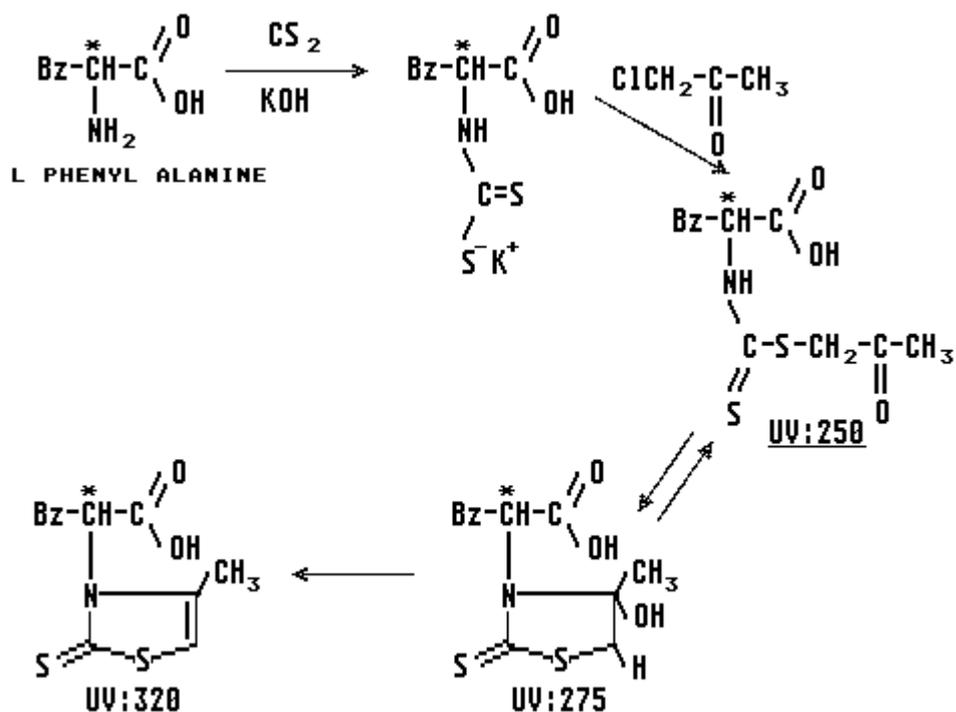
Cette recherche débouche directement sur la connaissance fondamentale de la synthèse des thiazolinethione, pouvant le cas échéant être chirale.

## 2) Synthèse des thiazolinethiones et des thiazolineones chirales

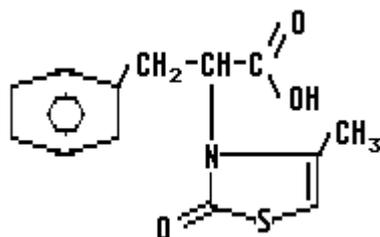
Vieux sujet de stage (qui dure depuis 1974) sur lequel M<sup>r</sup> G. FREMY travaille. Le procédé pour faire des thiazolinethiones est le suivant (il y a la possibilité de suivre l'avancement de la réaction par UV) :

Abréviation:



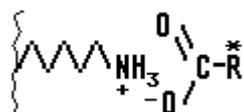


Pour passer de la thiazolinethione à la thiazolinone, il faut passer par l'ester méthylique. Une des difficultés s'est posée à la synthèse de l'ester non racémique (Pour cela, utilisation de la méthode au  $\text{SOCl}_2$  dans  $\text{MeOH}$ , car dans tout solvant aprotique on racemise). Une fois cet ester fait, le rajout de  $\text{CH}_3\text{I}$  et de  $\text{CH}_3\text{O}^- \text{Na}^+$  donne directement la thiazolinone malheureusement racémisée:



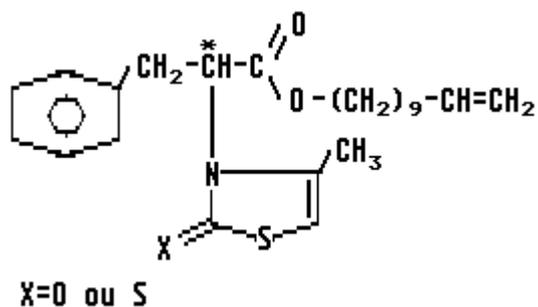
Il semblerait qu'il soit impossible d'obtenir la thiazolineone énantiomériquement pure car celle-ci se racémise seule cela est dû au fait que l'oxygène soit plus basique que le S, et attaque le proton pseudo acide en  $\alpha$  du C=O.

La synthèse de ces sélecteurs chiraux doit servir à la fabrication de phase stationnaire chromatographique chirale. On utilise une silice grêffée amino et on fait réagir la fonction acide soit directement pour former un sel,



soit en passant par un chlorure d'acide et dans ce cas on forme une liaison amide plus forte.

Deux autres selecteurs chiraux ont été synthétisés, il s'agit de :

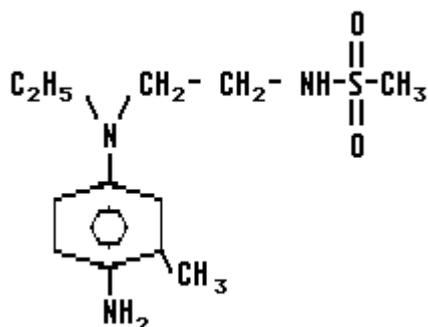


qui peuvent réagir avec la silice par la double liaison pour donner d'autres phases qui seront testées à Paris.

### 3)Oxydation du CD<sub>3</sub>

Ce stage de DEA effectué par M<sup>11e</sup> L. DE LUMLEY-WOODYEAR est réalisé pour la société KODAK-PATHE.

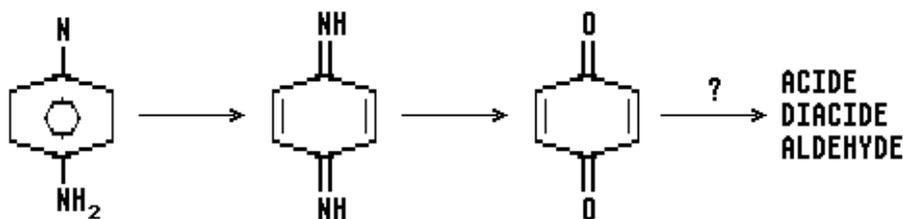
Dans les bains de développement photo couleur se trouve une molécule nommé CD<sub>3</sub> ayant pour formule:



Cette molécule difficilement dégradable, du fait de la stabilité du noyau aromatique, est rejetée à l'évier à une concentration de  $10 \text{ g.l}^{-1}$ . KODAK a donc cherché un moyen de détruire le CD<sub>3</sub>. Ils ont d'abord essayé le réactif de Fenton composé d' $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$  ce dernier servant de catalyseur.

En fait, après divers essais il dégrade cette molécule par  $\text{H}_2\text{O}_2$  à pH basique (11-13). Or normalement les aromatiques ne sont pas détruits par ce réactif. Il y a de fortes présomptions pour que cette dégradation se fasse par voie radicalaire selon :

(Ci-dessous je n'ai conservé que le motif principal)



M<sup>11e</sup> L. DE LUMLEY-WOODYEAR doit identifier et quantifier tous les composés de dégradation afin de vérifier que ceux-ci ne soient pas plus toxiques que le produit de départ.

Le gros problème, vient du fait que la molécule de départ est déjà diluée, donc les produits le sont encore plus.

Pour les identifier, M<sup>11e</sup> L. DE LUMLEY-WOODYEAR injecte dans une HPLC la phase aqueuse, mais elle obtient de très mauvais

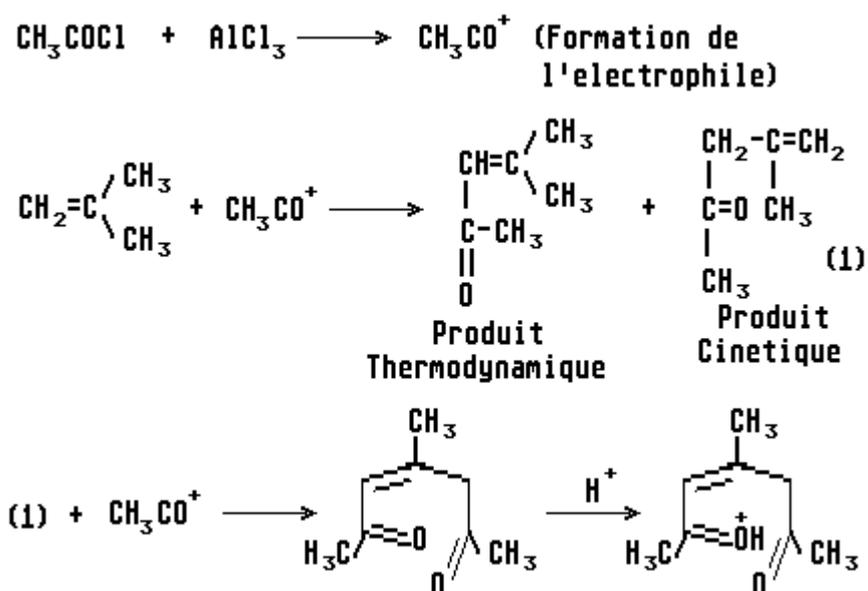
résultats. Pour éviter cela, elle fait des extractions liquide-liquide en continu en milieu acide et en milieu basique. L'analyse des produits organiques se fait par CPG/SM.

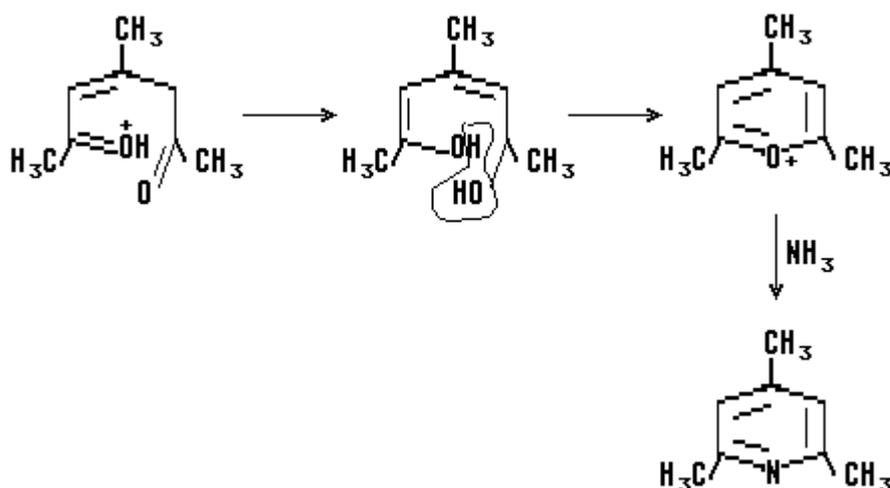
Le but de cette manipulation est de contribuer à un meilleur environnement.

#### 4) Acylation des alcènes

C'est une jeune roumaine, M<sup>lle</sup> C. POPESCU, faisant un stage d'entreprise en France et poursuivant son travail de l'institut de recherche en produits pharmaceutiques et biologiques, qui est chargée de la synthèse de sel de Pyridinium et de Pirylium.

La façon la plus simple pour les synthétiser est :





Pour les séparer (à des fins d'analyse) en Roumanie, ils font des sels de  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{BF}_4^-$  ou  $\text{HOOC-CH}_2\text{SO}_3^-$ , alors qu'en France on fait directement une HPLC (Le rendement est alors fait par étalonnage interne). Mais pour pouvoir injecter, il faut les pyridines seules. Pour les séparer des autres sous produits, on joue sur la différence de solubilité des formes acides et basiques dans différents solvants (les chlorhydrides sont solubles dans l'eau alors que les pyridines ne le sont qu'en milieu organique).

Afin d'augmenter le rendement une méthode avec  $\text{Me}_3\text{Si-CH}_2\text{-CH=CH}_2$  est en cours d'expérimentation.

### III) La chromatographie chirale

La chromatographie chirale est aussi un axe très important du groupe. Plusieurs développements sont en cours.

#### 1) Plan d'expérience

Le plan d'expérience a été réalisé l'année dernière pour la première fois par M<sup>r</sup> J.L. STEIN (absent durant mon stage), professeur à l'IUT d'hygiène et sécurité de Luminy, qui a décidé de s'occuper du labo chromatographique par contrat pédagogique afin de valoriser sa carrière.

Le plan d'expérience, que le professeur ROUSSEL développe pour toutes les phases chirales, permet de chiffrer mathématiquement les interactions entre la phase stationnaire et certains substituants d'une série de composés.

Prenons l'exemple d'une molécule sur laquelle on peut greffer 3 substituants  $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ . Chacun de ces substituants ne peut être que 2 atomes ou groupements (Exemple:  $X_1 = S$  ou  $O$ ) et on donne à chacun une valeur de + ou - 1 (Exemple  $X_1 = -1$  si  $X_1 = O$ ). On peut alors écrire une variable observable  $Y$  par un modèle quadratique du genre:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 + b_{123} X_1 X_2 X_3 \quad (1)$$

En résolvant l'équation (1), on peut alors voir en fonction

des valeurs des coefficients, le poids de chaque substituant de la molécule envers une phase chirale donnée. (Voir exemple de publication en annexe). On peut même grâce à cette équation prévoir l'ordre et les inversions d'ordre de sortie des énantiomères.

Grâce à ce principe, on peut quantifier les interactions sans faire de modélisation moléculaire très complexe.

## 2) Dérivé de la cyclodextrine

Sujet tout neuf, que réalise M<sup>lle</sup> A. FAVROU, en 1<sup>ère</sup> année de thèse, sur l'utilisation des dérivés de la cyclodextrine.

Mais avant tout, il a fallu déterminer par batch (essai dans un bécher) les 2 cas possibles:

- la cyclodextrine s'adsorbe sur la phase fixe (qui devient alors chirale)
- ne s'adsorbe pas et sa présence dans l'éluant doit être permanente.

Pour le moment, seul le deuxième cas est envisagé car le 1<sup>er</sup> est trop complexe. Cela est dû à la stabilité alors de la nouvelle phase formée.

Pour tenter de voir l'utilisation des cyclodextrines, on injecte en HPLC sur colonne RP 18 une série de composés

étalons. Premièrement, il faut voir si ceux-ci sont séparables sans cyclodextrine dans des temps qui ne soient pas trop longs, et s'ils le sont on ajoute la cyclodextrine pour essayer de séparer les énantiomères. On comprend que cela soit vraiment long car à chaque changement de phase mobile, il faut un minimum de deux heures pour stabiliser la colonne.

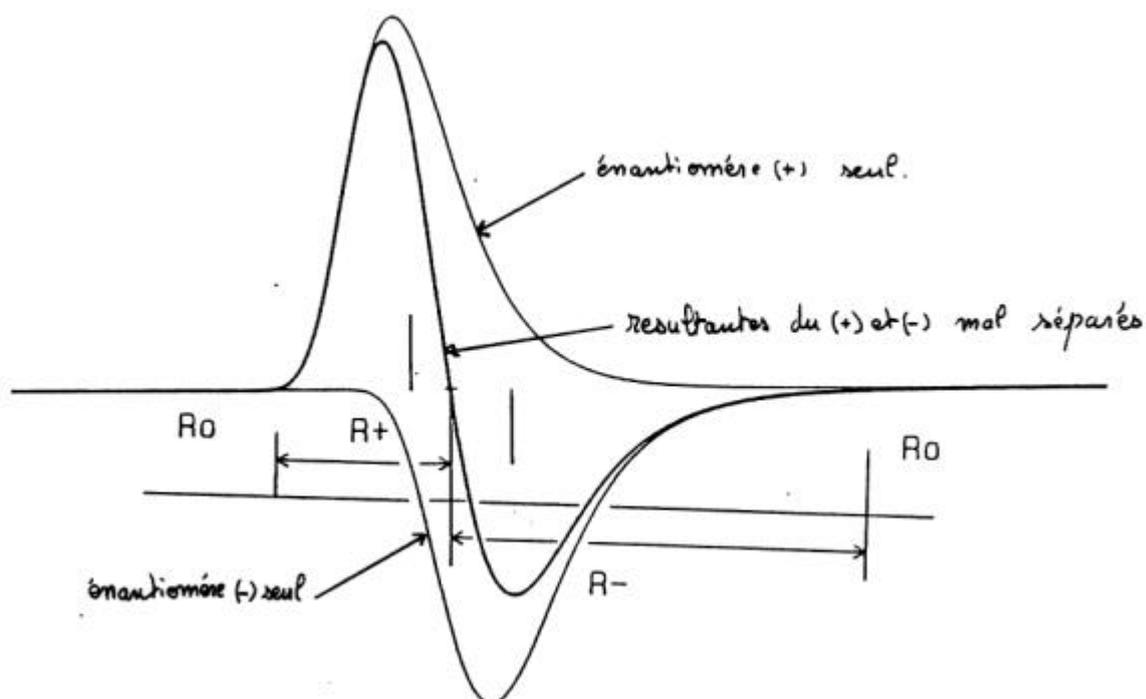
La première série de molécule choisie ne se sépare pas. Afin de pallier à ce problème, l'équipe a fait appel à des molécules allemandes synthétisées en 1972.

Si la séparation a lieu un plan d'expérience sera réalisé. Une tentative de mise en parallèle sera faite entre la CCM et l'HPLC pour voir rapidement si la séparation est possible.

### 3) Chromatographie chirale semie préparative

Deux énantiomères sortant très proches en HPLC sont très gênants pour la chromatographie préparative. M<sup>r</sup> C. TERGROSSA, Professeur de physique à l'école de la Marine Marchande, réalisant son DEA en 2 ans, élabore un programme informatique sur l'acquisition des données via le module intelligent CORALI. Une fois cette acquisition terminée, un traitement de

ces données permettra de faire la séparation optimale même dans le cas complexe suivant :



Au lieu de ne faire que trois fractions, 7 pourront être faites avec recyclage pour une meilleure pureté.

Le module CORALI est actuellement un prototype, le but en est une commercialisation d'un système autonome informatisé.

#### IV) Le projet CHIRBASE©

Le projet CHIRBASE (prononcé Kirbase) est un projet d'une telle ambition qu'il nécessite 3 personnes en permanence (M<sup>me</sup> H. PIERROT, M<sup>r</sup> P. PIRAS et M<sup>r</sup> C. ROUSSEL) plus l'aide de temps en temps d'une stagiaire en BTS Secrétariat.

CHIRBASE est une base de données graphiques pour la séparation d'énantiomères par chromatographie en phase liquide sur phases stationnaires chirales.

Il est vrai qu'aujourd'hui le nombre de publications sur la séparation des énantiomères est élevé. Vu aussi le nombre impressionnant de phases commerciales chirales, CHIRBASE est devenu une nécessité absolue de nos jours, car il devient difficile de choisir le meilleur système chromatographique pour séparer deux énantiomères. C'est pour cela que CHIRBASE, contenant plus de 12000 séparations, a vu le jour. Les entrées sont un véritable travail de fourmis. Il faut lire de nombreuses publications dont certaines datent de 1977. Quand une est intéressante ou peut apporter des renseignements complémentaires, il faut alors prendre contact avec l'auteur pour avoir le maximum de données.

L'utilisation de la base est très simple et se fait en deux étapes.

La recherche se fait selon plusieurs critères comme par exemple : la structure complète de la molécule, par sous structure, par type de phase, par auteur, ou si on veut par type de chiralité de la molécule ...

En sortie (voir deux exemples d'écran en annexe), on obtient le nombre de séparations possibles, la meilleure séparation, toutes les données pour réaliser la séparation, tous les renseignements indiquant la provenance des données, ...

CHIRBASE a été développé sur le logiciel CHEMBASE de Molecular Design Limited's (fonctionne sur un ordinateur compatible PC)

Il est à noter que la base peut être acquise sous forme de licence. Le prix est de un ECU Européen l'entrée. Le contrat prévoit un envoi de "remise à jour" tous les trois mois.

## V) CONCLUSION

### 1) Sur le stage

Ce stage a démontré que toutes les idées fondées peuvent être essayées et fournir de bons résultats. Mais il faut savoir qu'il existe un part de chance pour certaine découverte. De toute manière on a beau échaffauder une belle théorie, se sont toujours les molécules qui ont raisons.

La recherche est longue. Elle peut durer plusieurs années (comme les thiazolines chirales) mais chaque fois que l'on avance, on a envie d'en savoir plus.

La vie d'un labo de recherche n'est pas celle qu'on pourrait croire: elle n'est pas austère, on y travaille avec humour avec des conditions maximales de sécurité.

### 2) Personnelle

Ce stage m'a permis, entre autres, de voir un autre aspect du monde du travail.

Il y'a deux ans, j'ai fait un stage commercial et il y a un an, un stage de technicien.

Ces trois expériences réunies me font mieux comprendre l'infrastructure de notre société.

## **ANNEXES**

## Exemple de Plan d'expérience

ATTEMPTS TO QUANTIFY THE EFFECT OF SELECTED STRUCTURAL PARAMETERS ON THE SEPARATION OF SOME N-ARYLTHIAZOLINE-2-THIONE AND N-ARYLTHIAZOLIN-2-ONE ATROPIsomERS ON THE CHIRAL STATIONARY PHASE, CELLULOSE TRIACETATE (CTA1)

C. Roussel\*, J.-L. Stein, M. Sergent  
and R. Phan Tan Luu

URA 1410 CNRS, ENSSPICAM  
Faculte Sciences St Jérôme  
13397 Marseille Cedex 13, France

### SUMMARY

Molecular recognition mechanisms for cooperative chiral stationary phases such as cellulose triacetate are still poorly understood. Here studies on the effect of the position and type of the substituent on the separation of N-arylthiazoline-2-thione and N-arylthiazolin-2-one atropisomers on cellulose triacetate (CTA1) are described.

### INTRODUCTION

The molecular recognition mechanisms for cooperative chiral stationary phases (CSPs) are not clearly understood since the active sites are not easily identified in contrast to the situation for molecular CSPs in which models for chiral recognition have been proposed. A typical cooperative chiral stationary phase is microcrystalline cellulose triacetate which has been used successfully for many analytical and preparative chiral separations [1-3].

We have applied, for the first time, a two-level full factorial design to quantify the effect of three selected structural parameters (factors) on the separation and capacity factors (responses) of atropisomers in some N-arylsubstituted heterocycles (general structures shown in Figure 1) on cellulose triacetate (CTA1). This methodology allows a quantitative approach to the main effect of variables which affect the retention and separation according to the postulated model, thus greatly facilitating the discussion of the data.

### MATERIALS AND METHODS

The synthesis of compounds 1 to 8 has been already described, as well as their barriers to rotation around the pivot bond [4,5]. The barriers to enantiomerisation are larger than 29 kcal mol<sup>-1</sup> and thus the atropisomers are particularly stable at room temperature.

#### *Liquid Chromatography on Microcrystalline Cellulose Triacetate*

Cellulose triacetate (15-25  $\mu$ m from Merck) was packed in a thermostated 200 x 25 mm glass column equipped with a 5 cm<sup>3</sup> injection loop. Both UV (LKB 2138 UVICORD) and polarimetric (Perkin Elmer 241) detectors were used to monitor the eluent. In all cases the elution solvent was ethanol-water (96:4), at a flow rate of 138 ml hr<sup>-1</sup>, and pressure drop of ca. 1.7 bar, at a temperature of 25°C. For analytical runs, 2-3 mg of racemate were used to

\* Author to whom correspondence should be addressed.

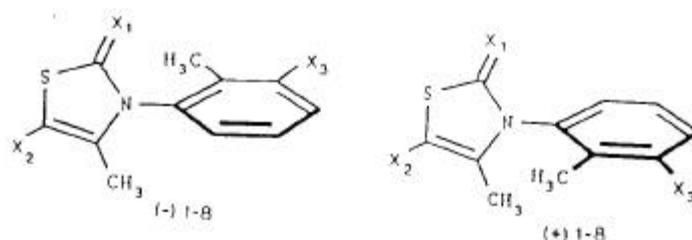


Fig. 1. Structure of the N-arylthiazoline-2-thiones and N-arylthiazolin-2-ones used in these studies. X1 = Oxygen or sulphur, X2 = hydrogen or methyl, X3 = hydrogen or methyl.

determine  $k'_1$ ,  $k'_2$  and  $\alpha$ . 1,3,5-Tri-*t*-butylbenzene was used as reference [6]. When the separation was particularly poor the capacity factors (given in Table 1) were determined by separate injection of each enantiomer. Semipreparative injections were performed on 80-100 mg of samples in 5-10 ml ethanol depending on the solubility of the sample. The flow rate used for preparative injections was 98 ml hr<sup>-1</sup>. After three to five cycles, samples of high enantiomeric purity suitable for the determination of the capacity factors were obtained.

## RESULTS AND DISCUSSION

The capacity factors for compounds 1-8 on cellulose triacetate are listed in Table 1, and are arranged according to the sign of the eluted enantiomer and not according to the actual order of elution. This arrangement corresponds to the absolute configuration since we have shown chemically and by substituent effect on rotatory power that all the positive atropisomers have the same absolute known configuration [5,7]. Misleading results would have been obtained in ranging the atropisomers in a series of "first-eluted enantiomers" and in a series of "second-eluted enantiomers" since we would have compared compounds with opposite spatial arrangement around the pivot bond.

We were interested in three structural modifications which may affect the spatial steric requirement of the atropisomer and (or) the dipole moment and basicity of the heterocyclic and aryl parts. These three structural modifications are denoted X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> and X<sub>3</sub>: X<sub>1</sub> is oxygen (level -1) or sulphur (level +1), X<sub>2</sub> is hydrogen (level -1) or methyl (level +1), X<sub>3</sub> is hydrogen (level -1) or methyl (level +1). The combination of these three structural modifications (factors) leads to the design of eight (2<sup>3</sup>) compounds which were

Table 1. Compounds, Design Levels, Responses and Column of Signs in the 2<sup>3</sup> Factorial Design

Compound	Design Levels			Responses			Signs for Interactions			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	k(+)	k(-)	k <sub>2</sub> /k <sub>1</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>
1	-	-	-	2.05	1.66	1.24	+	+	+	-
2	+	-	-	1.52	2.30	1.51	-	-	+	+
3	-	+	-	0.66	0.55	1.21	-	+	-	+
4	+	+	-	0.87	0.78	1.12	+	-	-	-
5	-	-	+	0.81	1.92	2.36	+	-	-	+
6	+	-	+	0.96	3.09	3.20	-	+	-	-
7	-	+	+	0.35	0.35	1.00	-	-	+	-
8	+	+	+	0.64	0.61	1.04	+	+	+	+

synthesised. In Table 1,  $X_1$ ,  $X_2$  and  $X_3$  are the factors and + and - indicate a measure at the higher or the lower level, respectively, and define the precise structure of the compound under study. For instance, the measurement with  $X_1$ ,  $X_2$  and  $X_3 = -1$  (first line of Table 1) corresponds to 3-(2'-methylphenyl)-4-methyl-4-thiazolin-2-one.

The formalism of the full factorial design according to a quadratic model indicates that an observable (response)  $Y$  can be expressed according to Eq. 1 [8]:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 \quad (1)$$

The coefficients in Eq. 1 are obtained by solving the height equations obtained by replacing in the equation the factors  $X_i$  by -1 or +1 according to the experimental design 1 (Table 1). The result of this is that the response  $k(+)$  (capacity factor of the dextrorotatory atropisomer) can be expressed by Eq. 2:

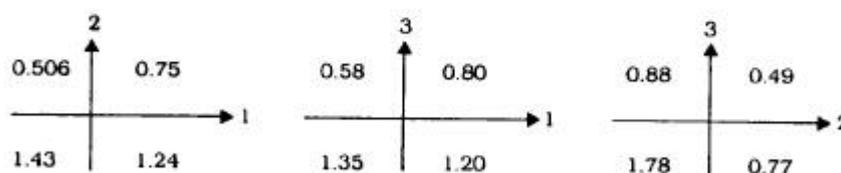
$$k(+) = 0.98 + 0.015 X_1 - 0.35 X_2 - 0.29 X_3 + 0.11 X_1X_2 + 0.09 X_1X_3 + 0.15 X_2X_3 - 0.075 X_1X_2X_3 \quad (2)$$

Inspection of the coefficients in Eq. 2 points out that two steric structural modifications ( $X_2$  and  $X_3$ ) have a drastic main effect on retention: namely the introduction of a methyl in position 5 of the heterocycle or introduction of a methyl group in position 3' of the aryl part. In both cases such a modification results in a decrease of the capacity factor which is not compensated by the positive interaction term  $X_2X_3$ . To our surprise the large electronic change obtained on going from an oxygen to a sulphur in position 2 ( $X_1$ ) has a minor effect on the retention of the positive atropisomer. A valuable property of the factorial design is that it makes possible not only the calculation of the main effect (average effect) but also interaction effects between variables as well. Inspection of the interaction diagrams between variables (Scheme 1) indicates that  $X_2$  has only a slight interaction with  $X_1$  and with  $X_3$ , respectively, whereas the interaction between variables  $X_1$  and  $X_3$  is very weak. On a molecular basis this might indicate that the structural change  $X_2$  modifies to some extent the interaction of variable  $X_1$  and  $X_3$  with the chiral support.

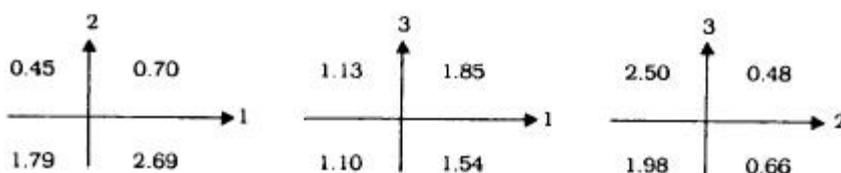
The results are completely different in Eq. 3 which expresses the capacity factor of the laevorotatory atropisomers:

$$k(-) = 1.40 + 0.29 X_1 - 0.83 X_2 + 0.08 X_3 - 0.16 X_1X_2 + 0.07 X_1X_3 - 0.17 X_2X_3 - 0.06 X_1X_2X_3 \quad (3)$$

For such a spatial arrangement, two structural modifications are important ( $X_1$  and  $X_2$ ). On going from an oxygen to a sulphur, a strong positive effect is observed (coefficient 0.29), whereas on going from hydrogen to methyl in position 5 of the heterocycle a very strong negative effect is observed. The structural modification of hydrogen for methyl in position 3' of the aryl ring ( $X_3$ ) has a minor effect on the retention. Inspection of the interaction diagrams (Scheme 2) shows that the interactions between variables  $X_1$  and  $X_2$  or  $X_3$  are weak.  $X_2$  and  $X_3$  show a slight interaction.



Scheme 1. Interactions between variables for the response  $k(+)$ .



Scheme 2. Interactions between variables for the response  $k(-)$ .

It emerges from these results that position 5 of the heterocycle is a very sensitive area for the interaction of both atropisomers with the cellulose triacetate chiral "receptors". This is clearly shown by the negative sign and the magnitude of both coefficients for  $X_2$  in Eqs 2 and 3. It is worth noting that for the same heterocyclic framework in thiazoline-2-thione derivatives of alanine and 2-phenethyl amine, the introduction of a methyl group in position 5 also resulted in a similar decrease of the capacity factors [9]. Conversely, both atropisomers appear to behave independently as far as structural modifications  $X_1$  and  $X_3$  are concerned.

On a molecular recognition basis, such an opposite behaviour might arise either from the occurrence of a very different spatial arrangement for each atropisomer within the same cellulose triacetate chiral receptor or from the occurrence of different chiral receptors as is probably the case for cooperative phases. More probably these two hypotheses are operating together.

Equation 4, which gives the variation of the separation factor  $k_2/k_1$  (as it is usually defined), indicates that strong interactions are observed and (as would be expected from an analysis of Eqs 2 and 3) that all three factors are important. One has to question the physical significance of the separation factor in the case of concurrent sites as is probably the case for cellulose triacetate [10]:

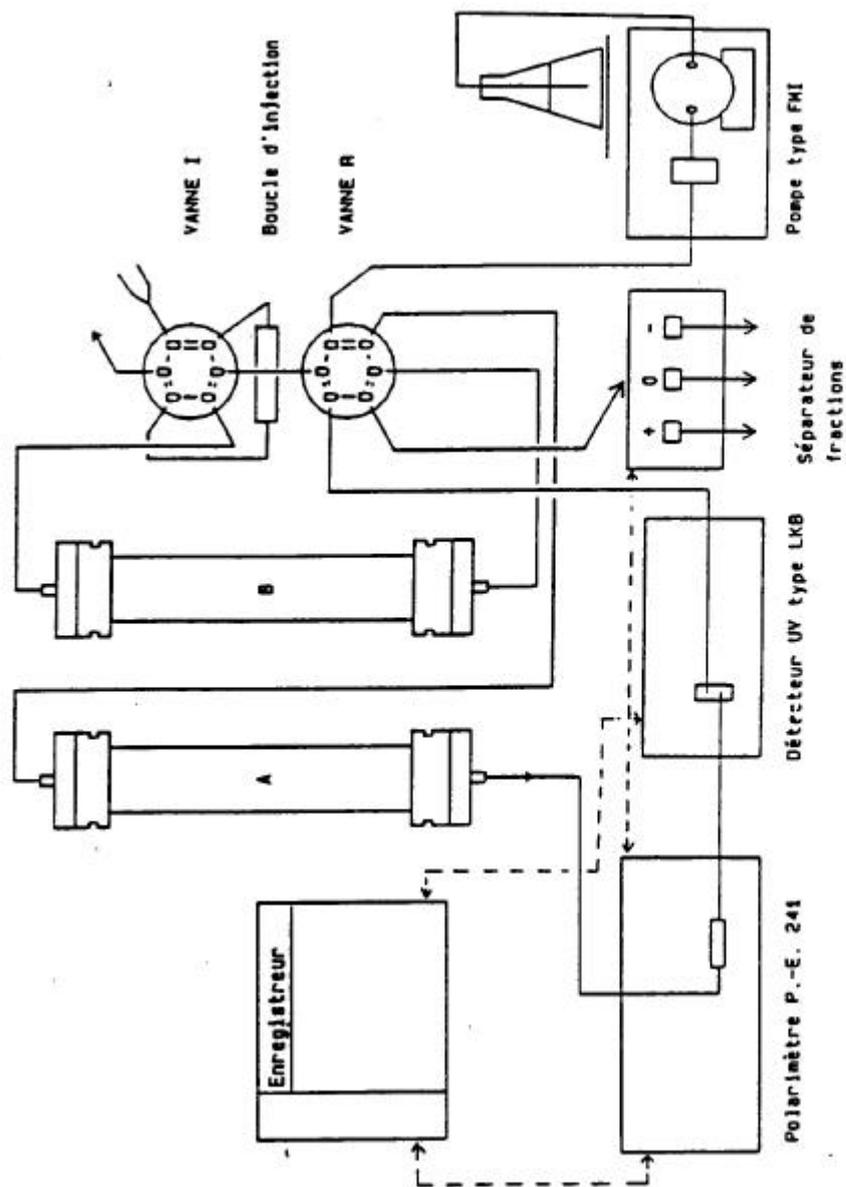
$$k_2/k_1 = 1.58 + 0.13 X_1 - 0.49 X_2 + 0.31 X_3 - 0.14 X_1 X_2 + 0.08 X_1 X_3 - 0.38 X_2 X_3 - 0.05 X_1 X_2 X_3 \quad (4)$$

We are currently approaching the molecular recognition mechanism in the cooperative phase CTA1 using factorial design in a larger set of atropisomers in which many substitutions are possible by unequivocal synthesis. This might be a complementary approach to the theoretical approach of the modeling of chiral recognition mechanisms on CTA1 developed recently on lactones with charge density mapping [11].

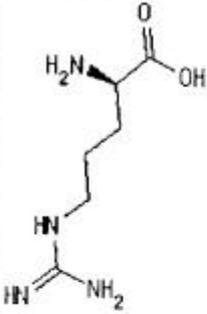
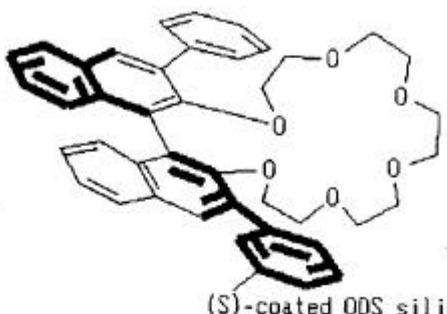
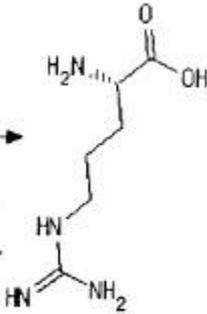
Furthermore, comparison of the analytical expression of the same responses, using the same factorial design obtained on different cooperative phases, might give a rather good description of the similarities and differences in molecular recognition mechanism within the various phases.

#### REFERENCES

1. S. G. Allenmark, "Chromatographic Enantioseparation: Methods and Applications", Ellis Horwood, Chichester, UK (1988).
2. M. Zief and L. J. Crane, "Chromatographic Chiral Separations", Chromatographic Science Series, Vol. 40, Marcel Dekker, New York (1988).
3. A. Mannschreck, H. Koller and R. Wernicke, *Kontakte (Darmstadt)*, 1:40-48 (1985).
4. C. Roussel, M. Adjimi, A. Chemlal and A. Djafri, *J. Org. Chem.*, 53:5076-5080 (1988).
5. C. Roussel, J. L. Stein and F. Beauvais, *New J. Chem.*, 14:169-173 (1990).
6. H. Koller, K. H. Rimböck and A. Mannschreck, *J. Chromatogr.*, 282:89-94 (1983).
7. C. Roussel and A. Chemlal, *New J. Chem.*, 12:947-952 (1988).
8. G. E. P. Box and N. R. Draper, "Empirical Model-Building and Response Surfaces", John Wiley, New York, 4:105-142 (1987).
9. R. Isaksson and J. Roschester, *J. Org. Chem.*, 50:2519-2521 (1985).
10. C. Roussel, J. L. Stein, F. Beauvais and A. Chemlal, *J. Chromatogr.*, 462:95-103 (1989).
11. R. M. Wolf, E. Francotte and D. Lohmann, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2:893-901 (1988).



*Chromatographie semi préparative*

ChemBase Main Menu				RXN FRM	NUM			
→	Clear	Retrieve	Search	Edit	Update	View	Exit	→
Name:		(±)-Arginine						
Code:	0-03062	Fst eluted:	(D) k'1	0.79	k'2/k'1	2.39	Chirality:	
	7451	Snd eluted:	(L) k'2	1.00	Res	5.01	Center	
Structure								
 <p>D-First eluted</p>			 <p>(S)-coated OOS silica</p>					
CHIR-11: 5000 Searching: 4290/5000 List n: 55/3 B: 0 F5-FxKeys								

Exan de CHIRBASE

ChenBase Main Menu				RXN FRM	NUM			
→	Clear	Retrieve	Search	Edit	Update	View	Exit	→
HPLC / LC:	HPLC	Amount:	10 nmol					
Type of Chromatogr.:	Analytical/ Preparative feasible				T°:	2°C		
Mobile phase:	Perchloric acid 0.01 M							
Type of column:	One (125*4 mm)							
Flow-rate:	0.5 mL/min	Particle size:	5 µm					
Csp:	(S)-18-Crown-6-ether (49 µg) coated on DDS silica							
Trade name:	Crownpak CR(+)							
Supplier:	Authors, Daicel							
Authors:	Shinbo, T.; Yamaguchi, T.; Nishimura, K.; Sugiura, H.							
Journal:	J. Chromatogr.		Year:	1987	Volume:	405		
BIB:	6735	C54 1168 N8 010	page:	145-153				
Dynamic coating. $\alpha$ increased with increasing amount of crown ether and decreasing T°. At 18°C, K'(L):0.50, $\alpha$ :1.51, Res:1.54.								
CHIR-11: 5000 Searching: 4290/5000 List A: 55/73 B: 0 F5-FxKeys								

*Extrait de CHIRBASE  
(renseignements)*

Le groupe de M<sup>r</sup> C. ROUSSEL fonctionne autour de trois grands axes qui sont:

- Les synthèses organiques chirales,
- Les phases chromatographiques chirales,
- Le projet CHIRBASE.

Chacun de ces axes n'est pas aussi indépendant qu'on pourrait le croire. On voit par exemple des synthèses de thiazolinethiones chirales qui serviront plus tard de phases stationnaires chirales.

On constate quand même cette année plus de synthèse achirale que de synthèse chirale. Mais ceci est un fait exceptionnel.

Quand au projet CHIRBASE, véritablement travail de fourmis qui consiste à rassembler le maximum de renseignements sur les séparations en HPLC de molécules chirales (séparation des énantiomères) afin d'être beaucoup plus efficace tout en gagnant du temps.

La recherche pour comprendre les interactions entre une phase stationnaire passe par un plan d'expérience développé par le Professeur C. ROUSSEL, afin là aussi d'aller plus vite dans cette compréhension (bientôt sur les cyclodextrines).

Mots Clés: Chiralité, Synthèse Chirale, Chromatographie, Phase Stationnaire Chirale, Thiazoline, Informatique, Base de Donnée, Recherche.