

การแยกอิแนนทิโอเมอร์ของอีพอกไซด์ที่ใช้อนุพันธ์ของแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน:

การศึกษาด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีและโมเลกุลาร์ดีอกกิ่ง

นาย ญัฐพล อัครชาติธงชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENANTIOMERIC SEPARATION OF EPOXIDES
USING DERIVATIZED γ -CYCLODEXTRINS:
GAS CHROMATOGRAPHIC AND MOLECULAR DOCKING STUDIES

Mr. Natthapol Assavachartthongchai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

501279

Thesis Title ENANTIOMERIC SEPARATION OF EPOXIDES USING
DERIVATIZED γ -CYCLODEXTRINS: GAS
CHROMATOGRAPHIC AND MOLECULAR DOCKING
STUDIES


By Mr. Natthapol Assavachartthongchai

Field of Study Chemistry

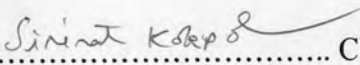
Thesis Advisor Assistant Professor Aroonsiri Shitangkoon, Ph.D.


Thesis Co-advisor Associate Professor Thammarat Aree, Dr.rer.nat.

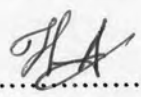
Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

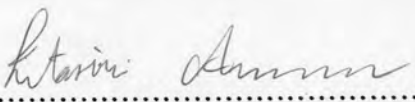

.....Dean of the Faculty of Science
(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)


THESIS COMMITTEE


..... Chairman
(Associate Professor Sirirat Kokpol, Ph.D.)


..... Thesis Advisor
(Assistant Professor Aroonsiri Shitangkoon, Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Thammarat Aree, Dr.rer.nat.)


..... Member
(Amarawan Intasiri, Ph.D.)


..... External Member
(Associate Professor Pornpimol Muangthai, Ph.D.)

ณัฐพล อัครชาติธงชัย: การแยกไอแนนทิโอเมอร์ของอีพอกไซด์ที่ใช้อนุพันธ์ของแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน: การศึกษาด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีและโมเลกุลาร์ดีคกิง.

(ENANTIOMERIC SEPARATION OF EPOXIDES USING DERIVATIZED γ -CYCLODEXTRINS: GAS CHROMATOGRAPHIC AND MOLECULAR DOCKING STUDIES) อ.ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร, อ.ที่ปรึกษาร่วม: รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมรัตน์ อารีย์, 112 หน้า.

ได้ทำการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของแอโรแมติกและแอลิแฟติกอีพอกไซด์ 49 ชนิด ด้วยคะพิลลารีแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีออกตะคิส(2,3-ได-โอ-เมทิล-6-โอ-เทอร์ท-บิวทิลไดเมทิลซิลิล)ไซโคลมอลโตออกตะออส (หรือ GSiMe) และออกตะคิส(2,3-ได-โอ-แอซีทิล-6-โอ-เทอร์ท-บิวทิลไดเมทิลซิลิล)ไซโคลมอลโตออกตะออส (หรือ GSiAc) เป็นเฟสคงที่ชนิดโครัล โดยได้ทำการศึกษาผลของชนิด จำนวนและตำแหน่งของหมู่แทนที่ ตำแหน่งโครัล และโครงสร้างหลักที่แตกต่างกันของอีพอกไซด์ที่มีผลต่อค่ารีเทนชันและค่าการเลือกจำเพาะของไอแนนทิโอเมอร์อย่างเป็นระบบ นอกจากนี้ ยังได้คำนวณค่าทางเทอร์โมไดนามิกส์และสร้างแบบจำลองโมเลกุลด้วยวิธีดีคกิง เพื่ออธิบายถึงแรงกระทำระหว่างไอแนนทิโอเมอร์กับเฟสคงที่และกลไกการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของอีพอกไซด์ที่นำมาศึกษา ไอแนนทิโอเมอร์ของแอโรแมติกอีพอกไซด์ทุกตัวสามารถแยกได้ด้วยเฟสคงที่ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือทั้งสองชนิด โดยหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งออร์โธบนวงแอโรแมติกจะช่วยส่งเสริมการแยกของไอแนนทิโอเมอร์ 5hexe เป็นแอลิแฟติกอีพอกไซด์ชนิดเดียวที่สามารถแยกได้ด้วยคอลัมน์ GSiAc โดยทั่วไป เฟสคงที่ชนิด GSiAc สามารถแยกไอแนนทิโอเมอร์ของอีพอกไซด์ส่วนใหญ่ได้ดีกว่าชนิด GSiMe นอกจากนี้ พบว่า ชนิด ตำแหน่งและจำนวนของหมู่แทนที่ของสาร รวมถึงชนิดของหมู่แทนที่ของไซโคลเดกซ์ทริน มีผลต่อการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์อย่างมาก จากอีพอกไซด์ที่นำมาศึกษาทั้งหมด พบว่า *cis*-2 ให้การแยกที่ดีที่สุดบนคอลัมน์ GSiAc ผลการคำนวณทางทฤษฎีของสไตรีนออกไซด์ที่มีหมู่แทนที่ 1 หมู่ จำนวน 12 ชนิดกับ GSiAc สอดคล้องกับผลการทดลองด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี และยังแสดงให้เห็นว่าการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอีพอกไซด์กับ GSiAc ขึ้นอยู่กับชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่ของสาร

ภาควิชาเคมี.....

สาขาวิชาเคมี.....

ปีการศึกษา2550.....

ลายมือชื่อนิสิต*ณัฐพล อัครชาติธงชัย*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา*อรุณศิริ ชิตางกูร*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม*ธรรมรัตน์ อารีย์*.....

487 22823 23 : MAJOR CHEMISTRY

KEYWORD: GAS CHROMATOGRAPHY / MOLECULAR MODELING /
CHIRAL SEPARATION / EPOXIDES / DERIVATIZED CYCLODEXTRIN

NATTHAPOL ASSAVACHARTTHONGCHAI: ENANTIOMERIC

SEPARATION OF EPOXIDES USING DERIVATIZED

γ -CYCLODEXTRINS: GAS CHROMATOGRAPHIC AND MOLECULAR

DOCKING STUDIES. THESIS ADVISOR: ASSISTANT PROFESSOR

AROONSIRI SHITANGKON, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR:

ASSOCIATE PROFESSOR THAMMARAT AREE, Dr.rer.nat., 112 pp.

Enantiomeric separations of 49 aromatic and aliphatic epoxides were studied by means of capillary gas chromatography using octakis(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltooctaose (or GSiMe) and octakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltooctaose (or GSiAc) as chiral stationary phases. The influence of type, position, and number of substituent; position of chiral center; and main-structure of epoxides on retention and enantioselectivity was systematically investigated. Thermodynamic data and molecular docking calculation were also acquired to clarify the strength of analyte-stationary phase interaction and the mechanism of chiral recognition towards the selected groups of epoxides. All aromatic epoxides could be successfully enantioseparated with either GSiMe or GSiAc phase, or both of them. *Ortho*-substitution on the aromatic ring seemed to promote enantioseparation. **Shex**e was the only chiral aliphatic epoxides that could be separated on GSiAc column. Generally, the GSiAc phase exhibited higher degree of enantioseparation towards most analytes than did the GSiMe phase. In addition, type, position, and number of analyte substituent as well as type of cyclodextrin substituent strongly affect enantioseparation. Among all epoxides tested, *cis*-2 exhibited the best enantioseparation on the GSiAc column. Results from molecular modeling of 12 mono-substituted styrene oxides and GSiAc were in agreement with those from gas chromatographic experiment and suggested that the complexation between epoxides and GSiAc were dependable on the type and position of analyte substituent.

DepartmentChemistry.....

Student's signature

Field of studyChemistry.....

Advisor's signature

Academic year.....2007.....

Co-advisor's signature

Natthapol Assavachartthongchai
A. Shitangkon
Thamarat Aree

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my sincere gratitude and deepest appreciation to my advisor, Assistant Professor Dr. Aroonsiri Shitangkoon. During the three years of my study, I have seen in her an excellent advisor who can bring the best out of her students. She provided valuable guidance and suggestion, constructive and intensive supervision, encouragement during all the steps of this thesis, and careful proofreading of this thesis.

I would also like to express my sincere appreciation to my co-advisor, Associate Professor Dr. Thammarat Aree who provides me with his extensive scientific knowledge, enthusiastic attitude, professional guidance and suggestions during my molecular modeling works, encouragement throughout this research, and careful proof reading of this thesis.

I would like to thank my thesis committee members, Associate Professor Dr. Sirirat Kokpol, Dr. Amarawan Intasiri, and Associate Professor Dr. Pornpimol Muangthai for their valuable suggestions and comments.

I am especially indebted to Nadtanet Nanthaboot, Rungroj Chanajaree, Tanawut Ploymeerusmee, and Arthit Vongachariya for their generous help in the molecular modeling works of this research. My special thanks go to Nadnudda Rodthongkum for her help in everything and valuable suggestion during my study.

Research facilities provided by the Department of Chemistry, Chulalongkorn University is appreciated. I also thank the staff in the Department of Chemistry for their continuous support during my study. My special thanks go to Professor Gyula Vigh (Texas A&M University, USA) for his kind provision of cyclodextrin derivatives used in this research.

Many thanks to all members of the chiral separation group and all my friends for enjoyable time during my study. Finally, my warmest thanks go to my family, especially my mother, for their endless love and support.

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (IN THAI)	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH)	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
LIST OF TABLES	ix
LIST OF FIGURES	x
LIST OF ABBREVIATIONS AND SIGNS	xiv
CHAPTER I INTRODUCTION	1
CHAPTER II THEORY & LITERATURE REVIEWS	4
2.1 Gas chromatographic separation of enantiomers	4
2.2 Cyclodextrins and their derivatives	4
2.3 Gas chromatographic separation of enantiomers using cyclodextrin derivatives	6
2.4 Thermodynamic investigation of enantiomeric separation by gas chromatography	11
2.5 Molecular modeling studies for enantioseparation	13
2.6 Investigation of chiral recognition between CD and epoxide derivatives by molecular modeling	14
CHAPTER III EXPERIMENTAL	22
3.1 Epoxide derivatives	22
3.2 Gas chromatographic analysis	28
3.3 Details of molecular modeling	29
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION	37
4.1 Gas chromatographic separation of styrene oxide derivatives	37
4.2 Thermodynamic investigation by van't Hoff approach...	42
4.3 Molecular modeling of the interaction between analyte and chiral selector	70
CHAPTER V CONCLUSIONS	78

	PAGE
REFERENCES	80
APPENDICES	87
Appendix A Glossary	88
Appendix B Details of thermodynamic data	90
Appendix C Molecular model of the docked configurations	99
Appendix D Example of input and output files	104
VITA	112

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
2.1	Molecular dimensions and physical properties of native CDs [19].....	5
2.2	r_{eqm} and ϵ parameters for AutoDock 4.0.1 atom types [32].	18
3.1	Chemical structures and abbreviations of epoxide derivatives used for GC analysis	22
4.1	The binding free energies at 298 K between the selected analytes and GSiAc obtained from molecular docking (AutoDock 4) and GC experiment.....	71
4.2	Formation energies of the free host and guest and binding energies of the complexes obtained form re-optimization with PM3 method.....	75

LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
1.1	Structures of (<i>R</i>)- and (<i>S</i>)-enantiomers of citalopram and nifenalol.....	1
2.1	Structure of CD molecule with <i>n</i> glucose units (left) resembling a truncated cone (right) with primary hydroxyl O6-H on the narrower side and secondary hydroxyl O2-H, O3-H on the wider side	6
2.2	Intermolecular pair potential energy curve	15
2.3	The main feature of a grid map showing grid box dimensions (n_x , n_y , n_z = number of grid point in x-, y-, z- axis, respectively; C: gray; O: red; H: white; Si: yellow; guest molecule: green).....	19
3.1	X-ray crystal structure of the permethylated γ -cyclodextrin (C: gray; O: red) [36]	30
3.2	PM3-optimized structures of (a) GSiMe and (b) GSiAc (C: gray; O: red; Si: yellow).....	30
3.3	Schematic representation (a) down and (b) up orientations used as starting configurations in docking calculation	33
3.4	Flowchart illustrating the various steps of molecular docking using AutoDock	35
4.1	Retention factor (k') of styrene oxide derivatives on OV-1701 column at 120 °C. See Table 3.1 for the analyte abbreviations	38
4.2	Retention factor (k'_2) of the more retained enantiomers of styrene oxide derivatives on GSiMe column at 120 °C. See Table 3.1 for the analyte abbreviations	39
4.3	Retention factor (k'_2) of the more retained enantiomers of styrene oxide derivatives on GSiAc column at 120 °C. See Table 3.1 for the analyte abbreviations	40

FIGURE		PAGE
4.4	Separation factor (α) of the enantiomeric pairs of styrene oxide derivatives on (a) GSiMe and (b) GSiAc column at 120 °C. See Table 3.1 for the analyte abbreviations	41
4.5	Enthalpy change ($-\Delta H$, kcal/mol) of epoxide analytes on OV-1701 column obtained from van't Hoff approach ($\bar{x} = 11.22$; SD = 1.05). See Table 3.1 for the analyte abbreviations	43
4.6	Entropy change ($-\Delta S$, cal/mol·K) of epoxide analytes on OV-1701 column obtained from van't Hoff approach ($\bar{x} = 15.06$; SD = 0.94). See Table 3.1 for the analyte abbreviations	44
4.7	Enthalpy change ($-\Delta H_2$, kcal/mol) of the more retained enantiomers of epoxide analytes on GSiMe column obtained from van't Hoff approach ($\bar{x} = 12.31$; SD = 1.17). See Table 3.1 for the analyte abbreviations	46
4.8	Entropy change ($-\Delta S_2$, cal/mol·K) of the more retained enantiomers of epoxide analytes on GSiMe column obtained from van't Hoff approach ($\bar{x} = 17.57$; SD = 1.22). See Table 3.1 for the analyte abbreviations	47
4.9	Enthalpy change ($-\Delta H_2$, kcal/mol) of the more retained enantiomers of epoxide analytes on GSiAc column obtained from van't Hoff approach ($\bar{x} = 13.16$; SD = 1.34). See Table 3.1 for the analyte abbreviations	48
4.10	Entropy change ($-\Delta S_2$, cal/mol·K) of the more retained enantiomers of epoxide analytes on GSiAc column obtained from van't Hoff approach ($\bar{x} = 19.10$; SD = 1.67). See Table 3.1 for the analyte abbreviations	49
4.11	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of epoxide analytes on (a) GSiMe and (b) GSiAc columns. See Table 3.1 for the analyte abbreviations	51

FIGURE		PAGE
4.12	Entropy difference, $-\Delta\Delta S$ (cal/mol·K) of the enantiomers of epoxide analytes on (a) GSiMe and (b) GSiAc columns. See Table 3.1 for the analyte abbreviations	52
4.13	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of mono-substituted styrene oxides on GSiMe column	54
4.14	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of mono-substituted styrene oxides on GSiAc column	54
4.15	Plots of $\ln \alpha$ versus $1/T$ of 2Cl , 3Cl , and 4Cl on GSiMe column.....	55
4.16	Chromatograms of (a) 2Cl , (b) 3Cl , (c) 4Cl on GSiMe column at 110 °C.....	55
4.17	Plots of $\ln \alpha$ versus $1/T$ of 4Br on GSiMe and GSiAc columns	56
4.18	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of di-substituted styrene oxides derivatives on GSiMe column.	59
4.19	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of di-substituted styrene oxides derivatives on GSiAc column.	59
4.20	Chromatograms of (a) 24Cl , (b) 25Cl , (c) 34Cl on GSiMe (left) and GSiAc (right) columns at 120 °C.	60
4.21	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of fluoro-substituted styrene oxides derivatives on GSiMe column (gray bar) and on GSiAc (white bar) columns.....	61
4.22	Chromatograms of (a) triF (b) tetraF (c) pentaF on GSiMe and GSiAc column at 80 °C.	63
4.23	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of styrene oxides derivatives in group 3.2 on GSiMe (gray bar) and on GSiAc (white bar) columns.....	64
4.24	Chromatograms of (a) 1 , (b) 6 , (c) 7 , (d) 8 on GSiMe column at 90 °C.....	65
4.25	Chromatograms of (a) 2 , (b) 3 , (c) 5 on GSiMe (left) and GSiAc (right) columns at 90 °C	67

FIGURE		PAGE
4.26	Enthalpy difference, $-\Delta\Delta H$ (kcal/mol) of the enantiomers of aliphatic epoxides on GSiMe (gray bar) and on GSiAc (white bar) columns.....	68
4.27	Superposition of the most stable complexes between GSiAc and (<i>R</i>)-enantiomer (green) and (<i>S</i>)-enantiomer (pink) of 2CF , 3CF , 4CF in both top and side views.....	73
4.28	Superposition of the most stable complexes between GSiAc and (<i>R</i>)-enantiomer (green) and (<i>S</i>)-enantiomer (pink) of 2NO , 3NO , 4NO in both top and side views.....	74

LIST OF ABBREVIATIONS AND SIGNS

BSiMe	=	heptakis(2,3-di- <i>O</i> -methyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl) cyclomaltoheptaose
BSiAc	=	heptakis(2,3-di- <i>O</i> -acetyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl) cyclomaltoheptaose
CD	=	cyclodextrin
CSP	=	chiral stationary phase
GSiMe	=	octakis(2,3-di- <i>O</i> -methyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl) cyclomaltooctaose
GSiAc	=	octakis(2,3-di- <i>O</i> -acetyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl) cyclomaltooctaose
GC	=	gas chromatography
HF	=	Hartree-Fock
i.d.	=	internal diameter
K	=	distribution coefficient
k'	=	retention factor or capacity factor
LGA	=	Lamarckian genetic algorithm
m	=	meter
min	=	minute
mm	=	millimeter
mL	=	milliliter
OV-1701	=	7% phenyl, 7% cyanopropyl, 86% dimethyl polysiloxane
PM3	=	Parametric Model number 3 (semi-empirical method)
R	=	universal gas constant (1.987 cal/mol·K)
R ²	=	correlation coefficient
SD	=	standard deviation
T	=	absolute temperature (K)
α	=	separation factor or selectivity
β	=	phase ratio

ΔE	=	binding energy
$\Delta\Delta E$	=	difference in binding energy for an enantiomeric pair
ΔG	=	Gibbs free energy
$\Delta\Delta G$	=	difference in Gibbs free energy for an enantiomeric pair
ΔH	=	enthalpy change of each enantiomer
$\Delta\Delta H$	=	difference in enthalpy change for an enantiomeric pair
ΔS	=	entropy change of each enantiomer
$\Delta\Delta S$	=	difference in entropy change for an enantiomeric pair
μm	=	micrometer, 10^{-6} m
$^{\circ}\text{C}$	=	degree Celsius
\bar{x}	=	mean value
6-31G**	=	polarization basis set