

การแยกอินเนนทีโอเมอร์ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดฟีนอกซีด้วย  
แก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้อนุพันธ์ของบีตาไซโคลเดกซ์ทรินเป็นเฟสคงที่



นางสาว นาฏนัคดา รอดทองคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-53-2503-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENANTIOMERIC SEPARATION OF PHENOXY ACID METHYL  
ESTERS BY GAS CHROMATOGRAPHY USING DERIVATIZED  
 $\beta$ -CYCLODEXTRINS AS STATIONARY PHASES

Miss Nadnudda Rodthongkum

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 2005

ISBN 974-53-2503-1

481794

Thesis Title                    Enantiomeric Separation of Phenoxy Acid Methyl Esters by  
Gas Chromatography Using Derivatized  $\beta$ -Cyclodextrins as  
Stationary Phases

By                                    Miss Nadnudda Rodthongkum

Field of Study                    Chemistry

Thesis Advisor                    Assistant Professor Aroonsiri Shitangkoon, Ph.D.


---

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

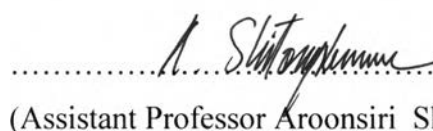


..... Dean of the Faculty of Science  
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

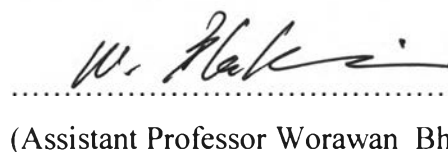
#### THESIS COMMITTEE



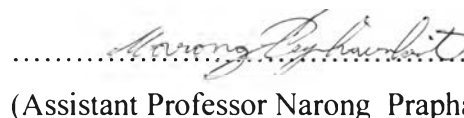
..... Chairman  
(Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)



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



..... Member  
(Assistant Professor Worawan Bhanthumnavin, Ph.D.)



..... Member  
(Assistant Professor Narong Praphairaksit, Ph.D.)

นางนัฏดา รอดทองคำ : การแยกอีนันทีโอเมอร์ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดฟีโนกซีด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้อนุพันธ์ของบีตาไซโคลเดกซ์ทรินเป็นเฟสคงที่.

(ENANTIOMERIC SEPARATION OF PHENOXY ACID METHYL ESTERS BY GAS CHROMATOGRAPHY USING DERIVATIZED  $\beta$ -CYCLODEXTRINS AS STATIONARY PHASES)

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผศ. ดร. อรุณศิริ ชิตางกูร 131 หน้า. ISBN 974-53-2503-1

ได้สังเคราะห์และแยกอีนันทีโอเมอร์ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดฟีโนกซีจำนวน 46 ชนิดที่มีหมู่แทนที่ต่างชนิดกันด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีเฮปตะคิส(2,3-ได-โอ-เมทิล-6-โอ-เทอร์ท-บิวทิลไดเมทิลไซลิล)ไซโคลมอลโตเฮปตะโอส (หรือ BSiMe) และเฮปตะคิส(2,3-ได-โอ-อะเซทิล-6-โอ-เทอร์ท-บิวทิลไดเมทิลไซลิล)ไซโคลมอลโตเฮปตะโอส (หรือ BSiAc) เป็นเฟสคงที่ชนิดไครัลโดยได้ทำการศึกษาผลของชนิด ตำแหน่งและจำนวนของหมู่แทนที่บนวงแอโรแมติกที่มีผลต่อค่ารีเทนชันและค่าการเลือกจำเพาะของอีนันทีโอเมอร์ นอกจากนี้ยังได้คำนวณค่าทางเทอร์โมไดนามิกส์ เพื่ออธิบายถึงแรงกระทำระหว่างอีนันทีโอเมอร์กับเฟสคงที่และการแยกของอีนันทีโอเมอร์ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดฟีโนกซีที่นำมาศึกษา พบว่าอีนันทีโอเมอร์ของสารที่นำมาศึกษาทุกตัว ยกเว้น 2,6Me, 2,6Cl และ 2,4,6Cl สามารถแยกได้ด้วยเฟสคงที่ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือทั้งสองชนิด โดยที่เฟสคงที่ชนิด BSiMe สามารถแยกอีนันทีโอเมอร์ของสารส่วนใหญ่ได้ดีกว่าชนิด BSiAc และพบว่าชนิด ตำแหน่งและจำนวนของหมู่แทนที่บนวงแอโรแมติกมีความสำคัญต่อการแยกด้วยเฟสคงที่ทั้งสอง นอกจากนี้ชนิดของหมู่แทนที่บนโมเลกุลของไซโคลเดกซ์ทริน (BSiMe เทียบกับ BSiAc) มีผลต่อการแยกของอีนันทีโอเมอร์มากเช่นกัน เนื่องจากแนวโน้มของการแยกของทั้งสองคอลัมน์แตกต่างกัน คอลัมน์ทั้งสองนี้จึงสามารถใช้เสริมกัน ได้เป็นอย่างดีในการแยกอีนันทีโอเมอร์ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดฟีโนกซีที่มีหมู่แทนที่หลากหลายชนิดมากขึ้น

ภาควิชา .....เคมี.....      ลายมือชื่อนิสิต .....นางนัฏดา..... รอดทองคำ...

สาขาวิชา .....เคมี.....      ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....อรุณศิริ ชิตางกูร.....

ปีการศึกษา ..... 2548.....

# # 467 22999 23 : MAJOR CHEMISTRY

KEYWORD: CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY / DERIVATIZED  
CYCLODEXTRIN / CHIRAL SEPARATION / PHENOXY ACID METHYL  
ESTERS

NADNUDDA RODTHONGKUM: ENANTIOMERIC SEPARATION OF  
PHENOXY ACID METHYL ESTERS BY GAS CHROMATOGRAPHY  
USING DERIVATIZED  $\beta$ -CYCLODEXTRINS AS STATIONARY PHASES.

THESIS ADVISOR: ASST. PROF. AROONSIRI SHITANGKON, Ph.D.,  
131 pp. ISBN 974-53-2503-1

Fourty-six phenoxy acid methyl esters were synthesized and their enantiomeric separations were studied by means of capillary gas chromatography using heptakis(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (BSiMe) and heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltcheptaose (BSiAc) as chiral stationary phases. The effects of type, position and number of aromatic substitution on the retention and enantioselectivity were systematically investigated. Thermodynamic data were also calculated to clarify the strength of analyte-stationary phase interaction and enantioseparation towards the selected group of phenoxy acid methyl esters. All tested analytes, except for **2,6Me**, **2,6Cl** and **2,4,6Cl** could successfully be enantioseparated with either BSiMe or BSiAc, or otherwise both of them. Generally, BSiMe phase exhibited higher degree of enantioseparation towards most analytes than BSiAc phase. On both columns, the type, position and number of aromatic substituent strongly influence enantioseparation. Additionally, the type of substituent on cyclodextrin molecule (BSiMe vs. BSiAc) affects the enantioseparation as well. Thus, both columns can be used to compliment one another to enhance the enantioseparation ability of various substituted phenoxy acid methyl esters.

Department .....Chemistry..... Student's signature .....Nadnudda Rodthongkum  
Field of study .....Chemistry..... Advisor's signature .....A. Shitangkoon  
Academic year..... 2005.....

## ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my deep gratitude to my special advisor, Assistant Professor Dr. Aroonsiri Shitangkoon for her professionalism, precious suggestion and careful reading, together with encouragement and very kind assistance in everything throughout my research. I would like to thank Professor Dr. Sophon Roengsumran, Assistant Professor Dr. Worawan Bhanthumnavin and Assistant Professor Dr. Narong Praphairaksit for their valuable comments, suggestions and reading. For his special guidance and kind permission to use some chemicals and equipment, I am grateful to Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri. Also, I am greatly thankful to Associate Professor Dr. Tirayut Vilaivan for his professional advice on organic chemistry problems.

Appreciation is also expressed to the Department of Chemistry and Graduate School of Chulalongkorn University for the financial support as a part of this research work. I thank all the staffs in the Department of Chemistry for the continuous support throughout my study.

My special thank go to Professor Gyula Vigh for his kind provision of cyclodextrin derivatives used in this research.

Warm thanks also extend to many best friends for their encouragement, kind assistance and social support; particularly, special food and I am thankful to everybody in my research group, giving me the enjoyable time during the years.

Finally, my warmest thanks go to my beloved parents and my lovely family for their care, understanding, encouragement and unlimited support throughout my entire education. Without them, I would have never been able to achieve this goal.

## CONTENTS

	<b>PAGE</b>
ABSTRACT (IN THAI).....	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS AND SIGNS.....	xiv
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
CHAPTER II THEORY.....	6
2.1 Gas chromatographic separation of enantiomers.....	6
2.2 Cyclodextrins and their derivatives.....	7
2.3 Mechanistic considerations of chiral separations and complexation of modified cyclodextrins.....	9
2.4 Cyclodextrins and derivatives as gas chromatographic stationary phases.....	11
2.5 Parameters influencing the enantiomeric separations.....	13
2.6 Enantiomeric separation of phenoxy acids by derivatized cyclodextrins.....	15
2.7 Thermodynamic investigation of enantiomeric separation by gas chromatography.....	20
CHAPTER III EXPERIMENTAL.....	24
3.1 General procedures.....	24
3.2 Synthesis.....	24
3.3 Preparation of capillary gas chromatographic columns.....	33

	<b>PAGE</b>
3.4 Gas chromatographic analyses.....	34
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION.....	35
4.1 Synthesis of phenoxy acid methyl ester derivatives.....	35
4.2 Determination of coated capillary column performance.....	36
4.3 Gas chromatographic separation of phenoxy acid methyl ester derivatives.....	41
4.4 Thermodynamic investigation by van't Hoff approach .....	48
CHAPTER V CONCLUSION AND SUGGESTION FOR FUTURE WORK.....	77
REFERENCES .....	80
APPENDICES .....	86
Appendix A Glossary .....	87
Appendix B NMR Spectra.....	90
Appendix C Thermodynamic studies.....	113
VITA .....	131



**LIST OF TABLES**

<b>TABLE</b>		<b>PAGE</b>
1.1	Different biological activities of enantiomers of some chiral drugs.....	2
1.2	Structure of some phenoxypropionates that are widely used and marketed.....	3
2.1	Some characteristics of native $\alpha$ -, $\beta$ - and $\gamma$ -CDs.....	7
3.1	Chemical structures and abbreviations of phenoxy acid methyl esters.....	28

## LIST OF FIGURES

FIGURE		PAGE
2.1	(a) A top view of underivatized $\beta$ -cyclodextrin comprising 7 glucopyranose units (b) The side view of cyclodextrin showing primary and secondary hydroxyls on both edges of a ring.....	8
2.2	Structures of nine phenoxy acid herbicides.....	17
2.3	Structures of four classes of herbicides in Schmitt <i>et al.</i> study	18
4.1	Chromatogram of Grob test on OV-1701 column (15.70 m $\times$ 0.25mm i.d. $\times$ 0.25 $\mu$ m film thickness); temperature program: 40 to 150 $^{\circ}$ C at 3.18 $^{\circ}$ C/min.....	37
4.2	Chromatogram of Grob test on BSiMe column (15.75 m $\times$ 0.25 mm i.d. $\times$ 0.25 $\mu$ m film thickness); temperature program: 40 to 150 $^{\circ}$ C at 3.16 $^{\circ}$ C/min.....	38
4.3	Chromatogram of Grob test on BSiAc column (16.00 m $\times$ 0.25 mm i.d. $\times$ 0.25 $\mu$ m film thickness); temperature program: 40 to 150 $^{\circ}$ C at 3.12 $^{\circ}$ C/min.....	39
4.4	Retention factors ( $k'$ ) of phenoxy acid methyl esters on OV-1701 column at 170 $^{\circ}$ C.....	42
4.5	Retention factors ( $k'$ ) of the more retained enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiMe column at 170 $^{\circ}$ C.....	43
4.6	Retention factors ( $k'$ ) of the more retained enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiAc column at 170 $^{\circ}$ C.....	44
4.7	Separation factors ( $\alpha$ ) of the enantiomeric pairs of phenoxy acid methyl esters on BSiMe column at 170 $^{\circ}$ C.....	45
4.8	Separation factors ( $\alpha$ ) of the enantiomeric pairs of phenoxy acid methyl esters on BSiAc column at 170 $^{\circ}$ C.....	46

<b>FIGURE</b>		<b>PAGE</b>
4.9	Chromatograms of 3,5F on (a) BSiMe and (b) BSiAc columns at 110°C.....	47
4.10	Enthalpy change ( $-\Delta H$ , kcal/mol) of phenoxy acid methyl esters on OV-1701 column obtained from van't Hoff approach ( $\bar{x} = 13.60$ ; SD = 0.83).....	50
4.11	Entropy change ( $-\Delta S$ , cal/mol·K) of phenoxy acid methyl esters on OV-1701 column obtained from van't Hoff approach ( $\bar{x} = 17.99$ ; SD = 0.50).....	51
4.12	Enthalpy change ( $-\Delta H_2$ , kcal/mol) of the more retained enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiMe column obtained from van't Hoff approach ( $\bar{x} = 14.94$ ; SD = 0.95).....	52
4.13	Entropy change ( $-\Delta S_2$ , cal/mol·K) of the more retained enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiMe column obtained from van't Hoff approach ( $\bar{x} = 20.61$ ; SD = 1.46).....	53
4.14	Enthalpy change ( $-\Delta H_2$ , kcal/mol) of the more retained enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiAc column obtained from van't Hoff approach ( $\bar{x} = 14.54$ ; SD = 1.06).....	54
4.15	Entropy change ( $-\Delta S_2$ , cal/mol·K) of the more retained enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiAc column obtained from van't Hoff approach ( $\bar{x} = 20.04$ ; SD = 1.95).....	55
4.16	Difference in enthalpy values ( $-\Delta(\Delta H)$ , kcal/mol) of the enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiMe column.	57
4.17	Difference in entropy values ( $-\Delta(\Delta S)$ , cal/mol·K) of the enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiMe column.	58
4.18	Difference in enthalpy values ( $-\Delta(\Delta H)$ , kcal/mol) of the enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiAc column..	59

<b>FIGURE</b>		<b>PAGE</b>
4.19	Difference in entropy values ( $-\Delta(\Delta S)$ , cal/mol·K) of the enantiomers of phenoxy acid methyl esters on BSiAc column.	60
4.20	Difference in enthalpy values ( $-\Delta(\Delta H)$ , kcal/mol) of the enantiomers of mono-substituted methyl 2-phenoxypropanoate derivatives on BSiMe column.....	62
4.21	Plots of $\ln \alpha$ versus $1/T$ of <b>2CF<sub>3</sub></b> , <b>3CF<sub>3</sub></b> and <b>4CF<sub>3</sub></b> on BSiMe column.....	63
4.22	Chromatograms of (a) <b>2CF<sub>3</sub></b> , (b) <b>3CF<sub>3</sub></b> , (c) <b>4CF<sub>3</sub></b> on BSiMe column at (left) 160 °C and (right) 150 °C.....	63
4.23	Difference in enthalpy values ( $-\Delta(\Delta H)$ , kcal/mol) of the enantiomers of mono-substituted methyl 2-phenoxypropanoate derivatives on BSiAc column.....	65
4.24	Chromatograms of <b>2Me</b> , <b>2OMe</b> , <b>2Br</b> , <b>2CN</b> , <b>2NO<sub>2</sub></b> on BSiMe and BSiAc columns at 160°C.....	66
4.25	Plots of $\ln \alpha$ versus $1/T$ of <b>3Me</b> on BSiMe and BSiAc columns.....	67
4.26	Chromatograms of <b>3Me</b> on BSiMe and BSiAc columns at 160°C, 150°C, 140°C and 130°C.....	68
4.27	Difference in enthalpy values ( $-\Delta(\Delta H)$ , kcal/mol) of the enantiomers of di-substituted methyl 2-phenoxypropanoate derivatives on BSiMe column.....	70
4.28	Difference in enthalpy values ( $-\Delta(\Delta H)$ , kcal/mol) of the enantiomers of di-substituted methyl 2-phenoxypropanoate derivatives on BSiAc column.....	71
4.29	Chromatograms of (a) <b>2,6Me</b> ; (b) <b>2,6F</b> ; (c) <b>2,6Cl</b> on BSiMe column at 150°C.....	72
4.30	Chromatograms of <b>2,3Cl</b> , <b>2,5Cl</b> and <b>3,4Cl</b> on BSiMe and BSiAc columns at 160°C.....	73

<b>FIGURE</b>		<b>PAGE</b>
4.31	Chromatograms of <b>2,3Me</b> , <b>2,4Me</b> and <b>2,5Me</b> on BSiMe and BSiAc columns at 140°C.....	73
4.32	Plots of $\ln \alpha$ versus $1/T$ of <b>3,4Me</b> on BSiMe and BSiAc columns.....	74
4.33	Chromatograms of <b>3,4Me</b> on BSiMe and BSiAc columns at 170°C, 160°C, 150°C and 140°C.....	75

**LIST OF ABBREVIATIONS AND SIGNS**

BSiMe	=	heptakis(2,3-di- <i>O</i> -methyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose
CD	=	cyclodextrin
°C	=	degree celsius
BSiAc	=	heptakis(2,3-di- <i>O</i> -acetyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose
i.d.	=	internal diameter
K	=	distribution coefficient
k'	=	retention factor or capacity factor
m	=	meter
min	=	minute
mm	=	millimeter
mL	=	milliliter
N	=	number of theoretical plate
OV-1701	=	7% phenyl, 7% cyanopropyl, 86% dimethyl polysiloxane
ppm	=	part per million
R	=	universal gas constant (1.987 cal/mol·K)
R <sup>2</sup>	=	correlation coefficient
SD	=	standard deviation
SN	=	separation number
T	=	absolute temperature (K)
$\alpha$	=	separation factor or selectivity
$\beta$	=	phase ratio
$\Delta G$	=	Gibb's free energy
$\Delta(\Delta G)$	=	difference in Gibb's free energy for an enantiomeric pair

$\Delta H$	=	enthalpy change of each enantiomer
$\Delta(\Delta H)$	=	difference in enthalpy change for an enantiomeric pair
$\Delta S$	=	entropy change of each enantiomer
$\Delta(\Delta S)$	=	difference in entropy change for an enantiomeric pair
$\mu\text{m}$	=	micrometer
$\bar{x}$	=	mean
$\delta$	=	chemical shift
$\mu$	=	dipole moment