



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ สมบัติของเฟสคงที่ชนิดใหม่สำหรับการแยกอีแนนท์ไอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

โดย อรุณศิริ ชิตางกูร และคณะ

31 ธันวาคม 2546

สัญญาเลขที่ PDF/18/2543

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ สมบัติของเฟสคงที่ชนิดใหม่สำหรับการแยกอีแนนทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. นางสาวจิราวิทย์ ญาณจินดา	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. Professor Gyula Vigh	Department of Chemistry, Texas A&M University
4. รศ.ดร.ยุวดี เชี่ยววัฒนา	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ชุดโครงการ

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ :	PDF/18/2543
ชื่อโครงการ :	สมบัติของเฟสคงที่ชนิดใหม่สำหรับการแยกอิแนนทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี
ชื่อนักวิจัย :	อรุณศิริ ชิดางกูร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จิราวิทย์ ญาณจินดา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย Gyula Vigh Texas A&M University ยุวดี เชี่ยววัฒนา มหาวิทยาลัยมหิดล
คำสำคัญ :	อิแนนทิโอเมอร์, แก๊สโครมาโทกราฟี, ไสโคลเดกซ์ทริน

ได้เตรียมอนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน 3 ชนิด ได้แก่ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (CD-2); heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (CD-3); และ heptakis(2-O-methyl-3,6-di-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (CD-5) อนุพันธ์ทั้งสามมีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง primary hydroxyls เหมือนกันคือ *tert*-butyldimethylsilyl แต่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง secondary hydroxyls ต่างกัน นำอนุพันธ์แต่ละชนิดไปเตรียมเป็นเฟสคงที่เพื่อแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี จากอนุพันธ์ทั้งสามชนิดที่ศึกษา อนุพันธ์ CD-2 ซึ่งมีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง secondary hydroxyls เป็นหมู่ methyl ขนาดเล็ก เป็นอนุพันธ์ที่ใช้งานได้กว้างที่สุดทั้งในด้านช่วงอุณหภูมิใช้งาน ความสามารถในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ออกจากกัน และกลุ่มของสารที่สามารถแยกได้ อนุพันธ์ CD-3 สามารถใช้แยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ได้ดีเช่นกัน แต่ไม่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารประเภทแอลกอฮอล์, เอมีน, และกรด เนื่องจากให้พีคที่ไม่สมมาตร ส่วนอนุพันธ์ CD-5 ซึ่งมีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง secondary hydroxyls ขนาดใหญ่และเกะกะ สามารถใช้เป็นเฟสคงที่ได้ในช่วงอุณหภูมิที่จำกัด แต่ไม่สามารถแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ที่นำมาศึกษาได้เลย

Abstract

Project Code : PDF/18/2543

Project Title : Properties of New Gas Chromatographic Stationary Phases for Enantiomer Separations

Investigators :

Aroonsiri Shitangkoon	Chulalongkorn University
Jirawit Yanjinda	Chulalongkorn University
Gyula Vigh	Texas A&M University
Juwadee Shiowatana	Mahidol University

Keywords : enantiomer, gas chromatography, cyclodextrin

Three β -cyclodextrin derivatives were prepared: heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (CD-2); heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (CD-3); and heptakis(2-O-methyl-3,6-di-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (CD-5). All derivatives possess identical *tert*-butyldimethylsilyl substituents at the primary hydroxyls but different substituents at the secondary hydroxyls. Each derivative was used to prepare gas chromatographic stationary phases for enantiomer separations. Among the three derivatives studied, CD-2, containing small methyl substituents at the secondary hydroxyls, is the most versatile selector in terms of operating temperature range, enantioselectivity and compound classes that can be separated. CD-3 provides good enantioselectivity but is not suitable for alcohols, amines, and acids as peak tailing was observed. CD-5, with large and bulky substituents at the secondary hydroxyls, can be used in a limited temperature range but, unfortunately, shows no enantioselectivity towards any of tested solutes.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณาจารย์และบุคลากรสังกัดภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	iii
Abstract	iv
กิตติกรรมประกาศ	v
หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)	1
เนื้อหางานวิจัย	3
บทนำ	3
วัตถุประสงค์	6
ขอบเขตของการวิจัย	6
การทดลอง	7
ผลการทดลอง	10
สรุปผลการทดลอง	18
เอกสารอ้างอิง	18
ผลงานที่ได้จากโครงการ	20
งานวิจัยเพิ่มเติม	21
ภาคผนวก	22
สำเนาบทความสำหรับการเผยแพร่	23

และนำไปผสมกับ polysiloxane OV-1701 ก่อนนำไปเคลือบบนแผ่นแคปิลารีคอลัมน์ เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ สำหรับการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่าคอลัมน์ทั้งสามมีประสิทธิภาพดี สามารถใช้งานได้ในช่วงอุณหภูมิ 40-240 °C ยกเว้นคอลัมน์ CD-5 ที่มีช่วงอุณหภูมิใช้งานแคบกว่า (~160-240 °C) อีกทั้งยังไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ใดที่นำมาทดสอบได้ ส่วนคอลัมน์ CD-2 และ CD-3 สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ของสารหลายประเภท เช่น คีโตน เอสเทอร์ เอมีน เอมีด อีพอกไซด์ แอลกอฮอล์ เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง :

ในการเตรียมอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อใช้แยกคู่อิแนนท์โอเมอร์นั้น พบว่าทั้งขนาดของไซโคลเดกซ์ทริน ขนาดและความมีขั้วของหมู่แทนที่ รวมทั้งตำแหน่งของหมู่แทนที่ มีผลต่อการแยกของคู่อิแนนท์โอเมอร์อย่างมาก อนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินทั้งสามชนิดที่เตรียมได้ (CD-2, CD-3, และ CD-5) มีหมู่แทนที่ที่ primary hydroxyls เหมือนกันคือหมู่ *tert*-butyldimethylsilyl แต่มีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls แตกต่างกันทั้งขนาดและความมีขั้ว อนุพันธ์ทั้งสามชนิดแสดงความสามารถในการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์แตกต่างกัน โดยที่ CD-2 ซึ่งมีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls เป็น methyl ซึ่งมีขนาดเล็กและมีขั้วน้อย สามารถใช้แยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้หลากหลายชนิด อีกทั้งให้พีคที่ค่อนข้างสมมาตร ส่วน CD-3 ซึ่งมีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls เป็น acetyl ซึ่งมีขั้วมากขึ้น สามารถใช้แยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้ดี แต่ไม่เหมาะกับสารที่มีขั้ว เช่น เอมีน แอลกอฮอล์ ส่วน CD-5 ซึ่งมีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls เป็น *tert*-butyldimethylsilyl ซึ่งมีขนาดใหญ่ พบว่าไม่เหมาะที่จะใช้เป็นเฟสคงที่สำหรับแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี เนื่องจากหมู่แทนที่ขนาดใหญ่ที่บริเวณปากโพรงด้านกว้างของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน จะกีดขวางไม่ให้สารเข้าไปเกิดแรงกระทำกับไซโคลเดกซ์ทรินและไม่เกิดการแยก

เนื้อหางานวิจัย

บทนำ

Chirality นับเป็นสาขาหนึ่งที่มีความสำคัญและได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน เนื่องจากสารอินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์หลายชนิดเป็นโมเลกุลอสมมาตร (asymmetric molecules) หรืออีนันทิโอเมอร์ (enantiomer) แม้ว่าคู่อีนันทิโอเมอร์จะมีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกัน แต่สมบัติทางชีวภาพรวมไปถึงความเป็นพิษ อาจแตกต่างกันมาก เท่าที่ผ่านมาพบว่ายาและสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดทั้งที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสารสังเคราะห์ ตลอดจนสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารดังกล่าวอยู่ในรูปของอีนันทิโอเมอร์ และคู่อีนันทิโอเมอร์ของสารเหล่านั้นหลายชนิดให้ฤทธิ์แตกต่างกัน เช่น ในการศึกษาเกี่ยวกับสารเคมีเพื่อการเกษตร ได้มีการใช้สารประเภท 2-aryloxypropanoic acids เป็นสารควบคุมการเจริญของพืช (plant growth regulators) พบว่าเฉพาะ *R*-isomer เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ในการควบคุมวัชพืช แต่ *S*-isomer จะไม่แสดงฤทธิ์นี้ [1] ส่วนในทางชีววิทยาและเภสัชวิทยา มีรายงานถึงเหตุร้ายแรงที่เกิดขึ้นในอดีต เมื่อหญิงตั้งครรภ์ใช้ racemic thalidomide เป็นยานอนหลับและระงับประสาท ส่งผลให้ทารกแรกเกิดมีรูปร่างไม่สมบูรณ์ ภายหลังจึงพบว่า (*S*)-(-)-thalidomide ไม่มีฤทธิ์เป็นยานอนหลับเลย แต่มีผลให้พัฒนาการของเด็กในครรภ์ผิดปกติอย่างรุนแรง [2] เป็นต้น ปัจจุบันหน่วยงานทางด้านสาธารณสุขได้ตระหนักถึงความสำคัญของ chirality จึงพยายามผลักดันให้มีการใช้ยาในรูปของอีนันทิโอเมอร์ที่บริสุทธิ์ ดังนั้นการสังเคราะห์ที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นอีนันทิโอเมอร์บริสุทธิ์ที่ต้องการเพียงตัวเดียว รวมไปถึงการวิเคราะห์สารผสมของอีนันทิโอเมอร์ทั้งสอง จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง [3-5]

เนื่องจากอีนันทิโอเมอร์มีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีเหมือนกัน จึงเป็นการยากที่จะแยกคู่อีนันทิโอเมอร์ออกจากกัน ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา นักวิจัยได้พัฒนาเทคนิคทางโครมาโทกราฟีและอิเล็กโตรโฟรีซิสที่ใช้เฟสคงที่ (stationary phase) หรือเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือตัวคัดเลือก (selector) ที่มีสมบัติไครัลเพื่อใช้แยกคู่อีนันทิโอเมอร์ [5] แก๊สโครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคหนึ่งที่ยาว สะดวก แม่นยำ และตรวจวัดสารปริมาณน้อยได้ดี จึงเหมาะที่จะใช้แยกอีนันทิโอเมอร์อินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ระเหยได้ดี และไม่สลายตัวเมื่อได้รับความร้อน การแยกอีนันทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีสามารถทำได้ 2 วิธี วิธีแรกโดยการทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนอีนันทิโอเมอร์ไปเป็นไดแอสเทอริโอเมอร์ (diastereomer) ด้วย enantiomerically pure derivatizing reagent ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเฟสคงที่ชนิดธรรมดาหรือ non-chiral แต่วิธีนี้จะต้องใช้ optically reagent ที่มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งมักมีราคาแพง นอกจากนี้อาจมีข้อผิดพลาดจากการที่อีนันทิโอเมอร์แต่ละตัวมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่างกัน อีกวิธีหนึ่งเป็นการวิเคราะห์อีนันทิโอเมอร์โดยตรงโดยใช้เฟสคงที่ที่มีสมบัติไครัล โดยอาศัยสมบัติการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างเฟสคงที่และอีนันทิโอเมอร์ที่ต้องการวิเคราะห์อย่างรวดเร็วและผันกลับได้

งานวิจัยเกี่ยวกับการแยกอีนันทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี จึงเน้นที่การสังเคราะห์เฟสคงที่ที่มีสมบัติไครัล (chiral stationary phase) ที่ใช้แยกอีนันทิโอเมอร์ได้หลายประเภท และมีความสามารถในการแยกสูง นักวิจัยพบว่าเฟสคงที่หลายชนิดที่เตรียมได้ มีความสามารถในการแยกอีนันทิโอเมอร์ต่างกันอย่างมากมาย แม้ว่าจะมีโครงสร้างหรือหมู่แทนที่ต่างกันเพียงเล็กน้อย [6,7] ความรู้เกี่ยวกับความสัมพันธ์

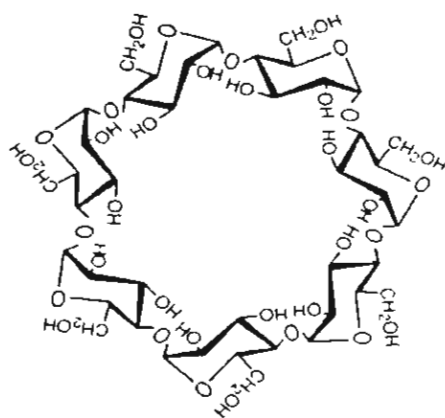
ระหว่างโครงสร้างของเฟสคงที่และความสามารถในการแยกอีแนนทิโอเมอร์จึงจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับงานวิจัยในสาขานี้ เพื่อที่จะพัฒนาเฟสคงที่สำหรับการแยกอีแนนทิโอเมอร์ให้มีสมบัติดีขึ้นต่อไป

การใช้เฟสคงที่ที่มีสมบัติไครัลเพื่อแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี มีที่มาจากงานวิจัยของ Gil-Av และคณะ [8] ในช่วงปี 1966 โดยใช้ trifluoroacetyl-L-isoleucine lauryl ester เป็นเฟสคงที่ และแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของ *N*-trifluoroacetyl- α -amino acid esters การแยกด้วยเฟสคงที่ชนิดนี้เชื่อว่าเกิดจากความแตกต่างของพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่อิแนนทิโอเมอร์กับเฟสคงที่ อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพและความเสถียรของเฟสคงที่ต่ออุณหภูมิยังค่อนข้างจำกัด จึงได้มีการพัฒนา chiral polysiloxane ขึ้น โดย Frank และคณะ [9] ได้เตรียม L-valine-*tert*-butylamide ในรูปของพอลิเมอร์ ที่รู้จักกันในชื่อว่า Chirasil-Val ส่วน König และคณะ [10] เตรียม XE-60-L-valine-(S)- หรือ (R)- α -phenylethylamide ในรูปของพอลิเมอร์ ซึ่งเฟสคงที่ที่เป็นพอลิเมอร์นี้มีความเสถียรต่ออุณหภูมิและประสิทธิภาพสูงขึ้น และใช้ในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของอนุพันธ์ของกรดอะมิโนได้ดี

ต่อมา Schurig [11,12] ได้เตรียมเฟสคงที่ชนิดใหม่ที่มีส่วนผสมของ สารประกอบของโลหะทรานซิชันที่มีสมบัติไครัล (chiral transition metal complexes) เช่น dicarbonylrhodium(I)-3-trifluoroacetyl-(1*R*)-camphorate โลหะทรานซิชันอื่น ๆ เช่น Ni(II), Co(II) หรือ Mn(II) สามารถเตรียมเป็นสารประกอบที่มีสมบัติไครัลสำหรับการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ได้เช่นเดียวกัน แม้ว่าเฟสคงที่ชนิดนี้สามารถแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ได้หลายประเภท เช่น วงแหวนอีเทอร์ (cyclic ethers) อัลดีไฮด์ คีโตน และแอลกอฮอล์ เป็นต้น แต่มีข้อจำกัดเรื่องความเสถียรต่ออุณหภูมิ จึงต้องทำการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่ำ (25-120 °C) ซึ่งส่งผลให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์

สารชนิดอื่นที่นำมาใช้เป็นเฟสคงที่ที่มีสมบัติไครัลสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี มักเป็นอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตชนิดสายตรงหรือชนิดวงแหวน ได้แก่ amylose [13], cellulose [14], oligosaccharides [15] และไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins) [7,16] ในจำนวนนี้อนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินได้รับความนิยมมากที่สุดในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา

ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin) เป็นอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นวงแหวน ประกอบด้วย D-กลูโคส 6-8 หน่วย นิยมเรียก แอลฟา-, เบตา-, และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน ตามจำนวนของหน่วยกลูโคส 6, 7, และ 8 หน่วย ตามลำดับ (รูปที่ 1) ไซโคลเดกซ์ทรินมีลักษณะคล้ายถ้วยหรือโดนัท รอบนอกของโมเลกุลมีสมบัติไฮโดรฟิลิก ส่วนภายในโมเลกุลมีสมบัติไฮโดรโฟบิก จึงทำให้ไซโคลเดกซ์ทรินเกิดสารประกอบกับโมเลกุลอื่นได้หลายประเภท [17,18] และเนื่องจากโมเลกุลของไซโคลเดกซ์ทรินมีสมบัติไครัล จึงสามารถใช้ไซโคลเดกซ์ทรินในการแยกไอโซเมอร์และอีแนนทิโอเมอร์ต่างๆ ออกจากกันได้ [16,19]



รูปที่ 1 โครงสร้างของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 7 หน่วยต่อกันเป็นวง

ในปี 1982 Smolková และคณะ [20] ได้ศึกษาสมบัติของไซโคลเดกซ์ทรินในการใช้เป็นเฟสคงที่ชนิดของแข็ง (solid stationary phase) สำหรับการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นครั้งแรก โดยละลายแอลฟา- หรือ เบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินใน dimethylformamide แล้วนำไปเคลือบบน solid support และใช้กับแพคคอลัมน์ (packed column) เพื่อแยกสารประกอบที่มีสูตรโครงสร้างหรือการจัดวางตัวในสามมิติต่างกัน ส่วนการใช้ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นเฟสคงที่ชนิดของเหลว (liquid stationary phase) นั้น มีรายงานครั้งแรกในปี 1983 โดย Koscielski, Sybilska, และ Jurczak [21] ใช้แอลฟา- หรือ เบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินกับแพคคอลัมน์ เพื่อแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ α - และ β -pinene แม้ว่า จะแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ออกจากกันได้ แต่ประสิทธิภาพของคอลัมน์นี้ต่ำมาก จึงนำไปสู่การเตรียมอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่เป็นของเหลวที่สามารถใช้ได้กับแคปิลารีคอลัมน์ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่า

เนื่องจากไซโคลเดกซ์ทรินประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyls) ทั้งชนิด primary และ secondary เป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาเกิดเป็นอนุพันธ์ได้หลายชนิด อีกทั้งความว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactivity) ของหมู่ไฮดรอกซิลทั้งสองชนิดแตกต่างกัน จึงสามารถเตรียมอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่ที่ primary และ secondary hydroxyls ต่างกันได้ และมีรายงานถึงการเตรียมอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่เป็น alkyl, acyl, deoxy and halogeno-, nitrogen containing, และ silyl เป็นต้น [22]

König และคณะ [7, 23] รายงานถึงการให้หมู่แทนที่ที่เป็นโซ่อัลคิลสายยาว เช่น pentyl เพื่อเตรียมอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่เป็นของเหลว พบว่า perpentyl α - และ β -cyclodextrins สามารถใช้เตรียมแคปิลารีคอลัมน์ได้ และใช้งานได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 200 °C นอกจากนี้ยังเลือกแทนที่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C-2 และ C-6 ด้วยหมู่ pentyl และที่ตำแหน่ง C-3 ด้วยหมู่ acetyl ได้เป็น 2,6-di-O-pentyl-3-O-acetyl cyclodextrins ซึ่งอนุพันธ์ชนิดนี้สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ได้หลายชนิด ส่วน Armstrong และคณะ [24-26] เตรียมอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่เป็นของเหลว ที่อยู่ในรูปของของผสมของอนุพันธ์ที่เป็นไอโซเมอร์หรือมีจำนวนหมู่แทนที่ต่าง ๆ กัน โดยเตรียมอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่เป็น dipentyl, trifluoroacetyl dipentyl, และ methyl 2-hydroxypropyl และพบว่าความสามารถในการแยกของเฟสคงที่ขึ้นกับชนิดของหมู่แทนที่และจำนวนหมู่แทนที่ (degree of substitution) อย่างไรก็ตาม การเตรียมอนุพันธ์ในรูปของของผสมนี้ จะทำได้ยาก และการศึกษาค่า thermodynamic parameters จะเป็นค่าเฉลี่ยของอนุพันธ์ทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ

Schurig และ Nowotny [27] เสนอแนวทางใหม่ในการใช้อนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่เป็นของแข็งในการเตรียมเฟสคงที่ชนิดของเหลว โดยผสมอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินกับ siloxane polymer ก่อนนำไปเตรียมเป็นคอลัมน์ รวมถึงการสังเคราะห์เฟสคงที่ที่มีอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินเชื่อมติดกับ polysiloxane [28-30] แนวทางนี้สามารถขยายช่วงอุณหภูมิที่ใช้งานของคอลัมน์ได้ถึงอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของอนุพันธ์ อย่างไรก็ตาม อนุพันธ์ชนิดนี้จะมีความสามารถในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ต่ำกว่าอนุพันธ์ที่เป็นของเหลว เนื่องจากถูกเจือจางในพอลิเมอร์

จากการศึกษาความสามารถในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินในช่วงหลายปีที่ผ่านมา พบว่าความสามารถในการแยก (enantioselectivity) ขึ้นกับขนาดของไซโคลเดกซ์ทริน รวมทั้งชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่บนไซโคลเดกซ์ทริน หมู่แทนที่ที่นิยมใช้กัน ได้แก่ alkyl [27,31], acyl [32-34] และ silyl [35-36] แม้ว่าตำแหน่งไครลของไซโคลเดกซ์ทรินจะอยู่ที่ C-2 และ C-3 (secondary hydroxyls) แต่นักวิจัยพบว่าการเปลี่ยนชนิดของหมู่แทนที่ที่ C-6 (primary hydroxyls) จะส่งผลต่อความสามารถในการแยกเช่นกัน [37-38]

ในโครงการวิจัยนี้ จะสังเคราะห์อนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินในรูปของไอโซเมอร์ที่บริสุทธิ์จำนวน 2-3 ชนิด โดยมีหมู่แทนที่ที่ primary hydroxyls เหมือนกัน แต่มีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls ต่างกัน โดยจะเลือกใช้หมู่ *tert*-butyldimethylsilyl เป็นหมู่แทนที่ที่ primary hydroxyls เนื่องจากมีรายงานถึงความสามารถในการแยกที่สูงกว่าหมู่แทนที่ชนิดอื่น [38] จากนั้นนำอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้เตรียมเป็นเฟสคงที่ในแคปิลารีคอลัมน์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ทำการศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการออกแบบอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่มีสมบัติดีขึ้นต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินในรูปของไอโซเมอร์ที่บริสุทธิ์ ที่มีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls ต่างๆ กัน
2. เพื่อเตรียมแคปิลารีคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์อิแนนทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างหมู่แทนที่ชนิดต่างๆ กับความสามารถในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่เตรียมได้

ขอบเขตของการวิจัย

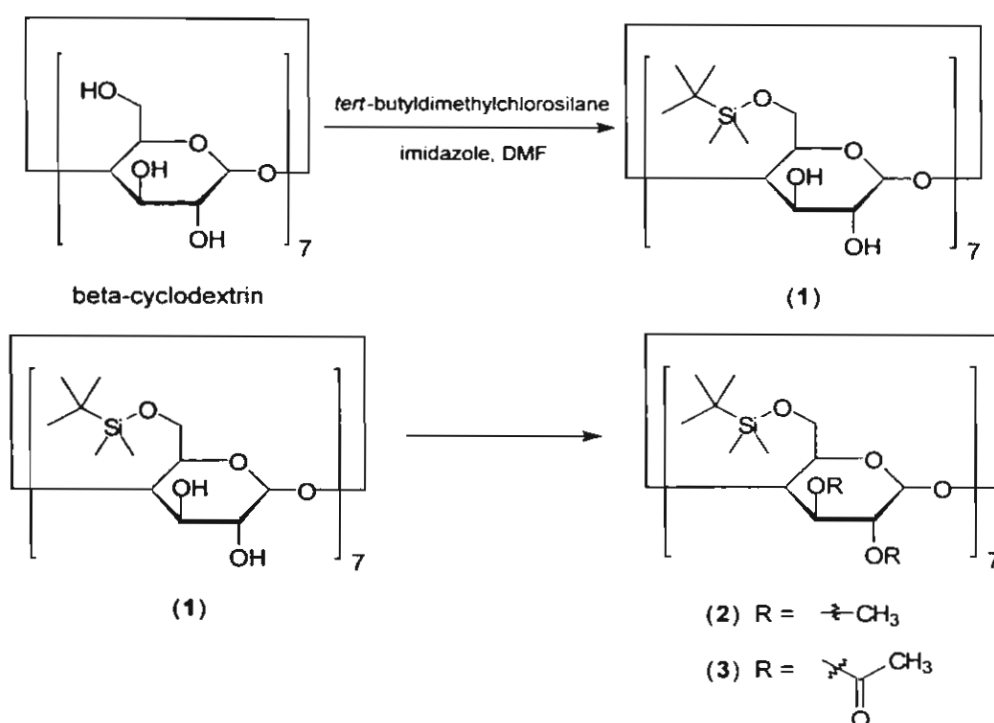
โครงการวิจัยนี้ จะสังเคราะห์อนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินในรูปของไอโซเมอร์ที่บริสุทธิ์ โดยมีหมู่แทนที่ที่ primary hydroxyls เป็นหมู่ *tert*-butyldimethylsilyl เหมือนกัน แต่มีหมู่แทนที่ที่ secondary hydroxyls ต่างกัน จำนวน 2-3 ชนิด เช่น หมู่แทนที่ขนาดเล็ก (methyl) หมู่แทนที่ที่มีความเกะกะสูง (*tert*-butyldimethylsilyl) หมู่แทนที่ที่ไม่มีขั้ว หรือหมู่แทนที่ที่มีขั้ว (acetyl) เป็นต้น จากนั้นนำอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้ไปเตรียมเป็นเฟสคงที่ในแคปิลารีคอลัมน์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี จะศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ชนิดต่าง ๆ อย่างน้อย 15 ชนิด เช่น

ไฮโดรคาร์บอน อะโรมาติก อีเทอร์ คีโตน แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ เอมีด เอมีน กรดคาร์บอกซิลิก เป็นต้น

การทดลอง

การสังเคราะห์อนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน

ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินในรูปของไอโซเมอร์ที่บริสุทธิ์ โดยดัดแปลงวิธีการสังเคราะห์จากเอกสารอ้างอิง [39,40]



• heptakis(6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (1)

ละลายเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ผ่านการอบแห้งแล้ว 1.00 g (0.88 mmol) และ imidazole (13.7 mmol) ด้วย dimethylformamide (DMF) 20 mL ในขวดกันกลม ค่อยๆ หยดสารละลายของ *tert*-butyldimethylchlorosilane (13.8 mmol) ใน DMF ลงในสารละลายของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง ตรวจสอบการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วย TLC (chloroform-methanol-water 50:10:1) ซึ่งปรากฏจุดของสารผลิตภัณฑ์ที่ค่า R_f ประมาณ 0.33-0.42 ตักตะกอนผลิตภัณฑ์ในน้ำ-น้ำแข็ง ละลายตะกอนด้วย dichloromethane และสกัดด้วย 10% HCl, NaHCO_3 , และน้ำ dry ด้วย anhydrous Na_2SO_4 และระเหยตัวทำละลายออก ได้ของแข็งสีขาว 1.93 g ทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel) โดยใช้ chloroform-methanol 8:1 $\rightarrow$ 1:1 เป็นตัวชะ ได้ผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์ (1) 0.65 g (43%) เป็นของแข็งสีขาว พิสูจน์ทราบโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ด้วย ^{13}C -NMR (CDCl_3): δ 101.99 [C-1], 81.74 [C-4], 73.57, 73.40 และ 72.52 [C-2, C-3, C-5], 25.89 [$(\text{CH}_3)_3\text{C}$], 18.27 [$(\text{CH}_3)_3\text{C}$], และ -4.51, -4.62 [$(\text{CH}_3)_2\text{Si}$]

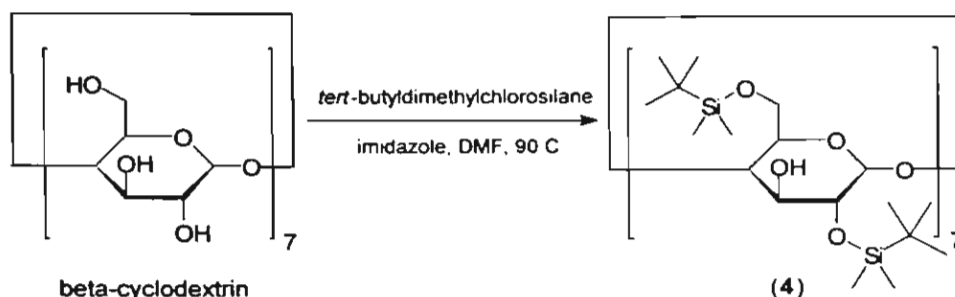
heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (2)

ค่อยๆ หยดสารละลายของ (1) 0.30 g (0.15 mmol) ใน DMF ลงในขวดก้นกลมที่มี sodium hydride (7 mmol) ที่แช่ในอ่างน้ำแข็ง คนสารละลาย 1 ชั่วโมง ก่อนหยด methyl iodide (10 mmol) ลงในสารละลาย คนสารละลายต่ออีก 1-3 ชั่วโมง ตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วย TLC (toluene-ethanol 4:1) ซึ่งปรากฏจุดของสารผลิตภัณฑ์ที่ค่า R_f ประมาณ 0.76 ตกตะกอนผลิตภัณฑ์ในน้ำ-น้ำแข็ง ละลายตะกอนด้วย dichloromethane และสกัดด้วยน้ำ เมื่อระเหยตัวทำละลายออก ได้ของแข็งสีขาว นำไปผ่าน column chromatography (dichloromethane-ethanol 100:0 $\rightarrow$ 80:20) ได้ผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์ (2) 0.16 g (50%) เป็นของแข็งสีขาว พิสูจน์ทราบโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 5.18 [d, 7H, H-1], 3.65 และ 3.51 [2s, 2(21H), OCH_3], 0.85 [s, 63H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$], และ 0.00 [s, 42H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$]

• heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (3)

คนสารละลายของอนุพันธ์ (1) 0.30 g (0.15 mmol), acetyl chloride 3 mL และ pyridine 4 mL ที่อุณหภูมิ 100 $^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วย TLC (toluene-methanol 3:1) ซึ่งปรากฏจุดของสารผลิตภัณฑ์ที่ค่า R_f ประมาณ 0.41 ตกตะกอนผลิตภัณฑ์ในน้ำ-น้ำแข็ง หลังผ่าน column chromatography ได้ผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์ (3) เป็นของแข็งสีขาว พิสูจน์ทราบโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 5.12 [d, 7H, H-1], 4.66 [dd, 7H, H-2], 2.06, 2.02 [2s, 2(21H), OAc], 0.84 [s, 63H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$], และ 0.01 [s, 42H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$]

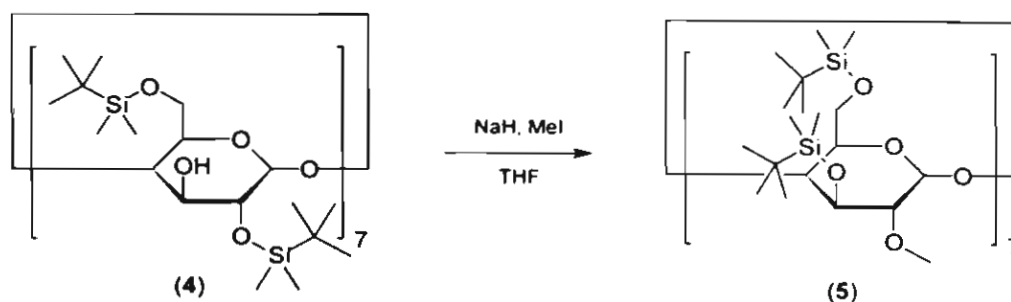
• heptakis(2,6-di-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (4)



ละลายเบตา-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ผ่านการอบแห้งแล้ว 0.50 g (0.44 mmol) และ imidazole (12 mmol) ด้วย dimethylformamide (DMF) 10 mL ในขวดก้นกลม ค่อยๆ หยดสารละลายของ *tert*-butyldimethylchlorosilane (11.5 mmol) ใน DMF ลงในสารละลายของเบตา-ไซโคลเดกซ์ทริน คนสารละลายที่อุณหภูมิ 90 $^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วย TLC (chloroform-hexane 3:2) ซึ่งปรากฏจุดของสารผลิตภัณฑ์ที่ค่า R_f ประมาณ 0.33-0.37 ตกตะกอนผลิตภัณฑ์ในน้ำ-น้ำแข็ง หลังผ่าน column chromatography ได้ผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์ (4) เป็นของแข็งสีขาว พิสูจน์ทราบโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ด้วย $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 4.82 [d, 7H, H-1], 4.42 [s, 7H, OH], 0.92 และ 0.83 [2s, 2(63H), $(\text{CH}_3)_3\text{C}$], และ 0.13 และ 0.01 [2s, 2(42H), $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$]; $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 102.57 [C-1],

82.02 [C-4], 74.93, 72.10 และ 71.88 [C-2, C-3, C-5], 61.92 [C-6], 26.26 [2-O-Si-C(CH₃)₃], 25.84 [6-O-Si-C(CH₃)₃], 18.85 [2-O-Si-C(CH₃)₃], 18.27 [6-O-Si-C(CH₃)₃], -4.53, -4.65 [2-O-Si(CH₃)₂], และ -5.06, -5.26 [6-O-Si(CH₃)₂]

- heptakis(2-O-methyl-3,6-di-O-*tert*-butyldimethylsilyl)cyclomaltoheptaose (5)



คนสารละลายของอนุพันธ์ (4) 0.30 g (0.11 mmol) และ sodium hydride (3 mmol) ใน tetrahydrofuran (THF) ที่แช่ในอ่างน้ำแข็งประมาณ 1 ชั่วโมง ก่อนหยด methyl iodide (5 mmol) ลงในสารละลายอย่างช้าๆ คนสารละลายต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 2 วัน ตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วย TLC (hexane-toluene 1:8) ซึ่งปรากฏจุดของสารผลิตภัณฑ์ที่ค่า R_f ประมาณ 0.93 แช่สารละลายในอ่างน้ำแข็ง ก่อนเติม methanol ที่ละลายอย่างช้าๆ เพื่อกำจัด sodium hydride ที่มากเกินไป จากนั้นระเหยตัวทำละลายออก ละลายของแข็งที่เหลือในของผสมน้ำ-hexane dry ชั้น hexane ด้วย anhydrous Na₂SO₄ และระเหยตัวทำละลายออก หลังผ่าน column chromatography ได้ผลิตภัณฑ์ที่บริสุทธิ์ (5) เป็นของแข็งสีขาว พิสูจน์ทราบโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ด้วย ¹H-NMR (CDCl₃): δ 5.25 [d, 7H, H-1], 3.33 [s, 21H, 2-O-CH₃], 3.03 [dd, 7H, H-2], 0.87 [s, 2(63H), 3-O-Si-C(CH₃)₃, 6-O-Si-C(CH₃)₃], 0.07, 0.09 [2s, 42H, 3-O-Si(CH₃)₂], และ 0.03 [s, 42H, 6-O-Si(CH₃)₂] ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 96.16 [C-1], 81.12 [C-2], 78.05 [C-4], 73.07 [C-3], 72.15 [C-5], 62.83 [C-6], 57.29 [2-O-CH₃], 26.29, 26.00 [3-O-Si-C(CH₃)₃, 6-O-Si-C(CH₃)₃], 18.38, 18.29 [3-O-Si-C(CH₃)₃, 6-O-Si-C(CH₃)₃], และ -3.77, -3.84, -4.74, -5.07 [3-O-Si(CH₃)₂, 6-O-Si(CH₃)₂]

การเคลือบแคปิลลารีคอลัมน์

ทำการเคลือบแคปิลลารีคอลัมน์ความยาวประมาณ 30 m ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm ด้วยวิธี static [41] โดยใช้สารละลายของเฟสคงที่ ใน dichloromethane เข้มข้น 0.4% w/v บรรจุลงในคอลัมน์ (ซึ่งเฟสคงที่จะเป็นของผสมระหว่างอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินกับ polysiloxane OV-1701 โดยเตรียมให้ทุกคอลัมน์มีความเข้มข้นของอนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินในพอลิเมอร์เท่ากัน คือ 0.12 Molar) ทำการระเหยตัวทำละลายในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เมื่อระเหยตัวทำละลายหมดแล้วจะได้เฟสคงที่หนา 0.25 μm เคลือบที่ผนังด้านในของคอลัมน์

การทดสอบสมบัติของแคปิลารีคอลัมน์

ทำการ condition คอลัมน์ที่เตรียมได้ก่อนใช้งาน ที่อุณหภูมิ 180-200 °C จนกระทั่ง baseline คงที่ จากนั้นจึงทดสอบสมบัติของแคปิลารีคอลัมน์ที่เตรียมได้ด้วย Grob mixture [42,43] โดยใช้ไฮโดรเจนเป็น แก๊สพา ที่อัตราเร็ว 50 cm/s (ปรับที่อุณหภูมิ 40 °C) ใช้ split injector ที่มีค่า split ratio เป็น 1:100 อุณหภูมิของ injector และ flame ionization detector เป็น 250 °C และใช้ *n*-alkanes ทดสอบประสิทธิภาพทุกครั้งก่อนการใช้งาน

การวิเคราะห์หือแนนทิโอเมอร์

ทำการทดสอบคอลัมน์ CD-2, CD-3 และ CD-5 (ที่เตรียมจากอนุพันธ์ (2), (3) และ (5) ตามลำดับ) ในการแยกหือแนนทิโอเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยเปรียบเทียบค่า retention factor หรือ capacity factor (k') และ selectivity (α) ของการแยก

ผลการทดลอง

การทดสอบสมบัติของแคปิลารีคอลัมน์

Grob Test เป็นวิธีทดสอบแคปิลารีคอลัมน์ที่ให้ข้อมูลเกี่ยวกับ inertness, สมบัติความเป็นกรด/เบส, และประสิทธิภาพของคอลัมน์ โดยที่ Grob mixture ประกอบด้วยสาร 12 ชนิด ผสมกันในอัตราส่วนที่ให้พื้นที่ใต้พีกของสารแต่ละชนิดใกล้เคียงกันเมื่อใช้ FID เป็น detector สารทั้ง 12 ชนิด (พร้อมชื่อย่อ) ได้แก่

C10	decane	ol	1-octanol
C11	undecane	D	2,3-butanediol
E10	methyl decanoate	P	2,6-dimethylphenol
E11	methyl undecanoate	A	2,6-dimethylaniline
E12	methyl dodecanoate	S	2-ethylhexanoic acid
al	1-nonanal	am	dicyclohexylamine

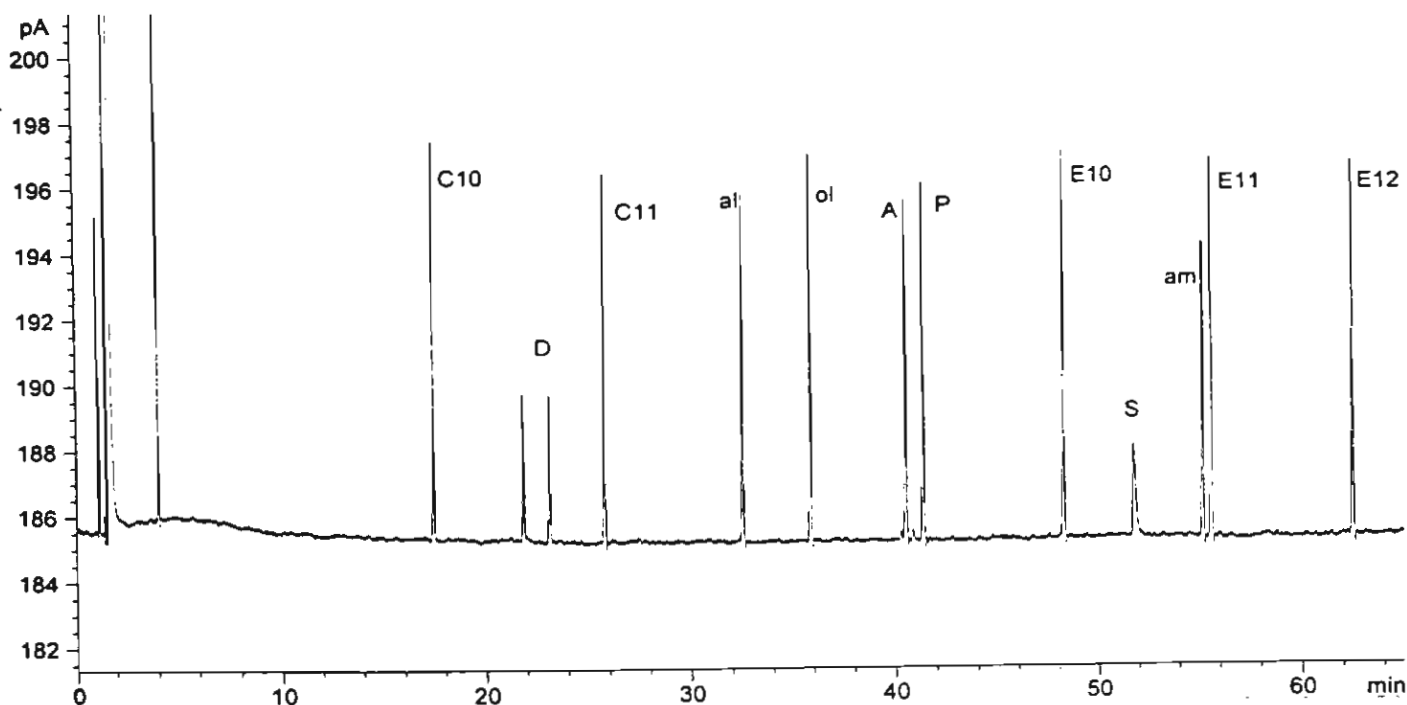
สาร ol, D, และ al ใช้ทดสอบสมบัติ inertness ของคอลัมน์ โดยลักษณะของพีกที่ได้และพื้นที่ใต้พีกจะบอกว่าสารเหล่านี้สามารถเกิด adsorption กับคอลัมน์หรือเฟสคงที่ได้หรือไม่ ความเป็นกรด/เบสของคอลัมน์จะดูจากพีกของคู่กรด/เบสอ่อน (P และ A) และคู่กรด/เบสแก่ (S และ am) ส่วนประสิทธิภาพของคอลัมน์ที่เตรียมได้จะคำนวณจากค่า Trennzahl (TZ) เฉลี่ยระหว่างคู่พีก E10-E11 และ E11-E12 โดยที่

$$TZ = \left[\frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{w_{h,1} + w_{h,2}} \right] - 1$$

t_R = retention time
 w_h = peak width at half height

คอลัมน์ CD-2 :

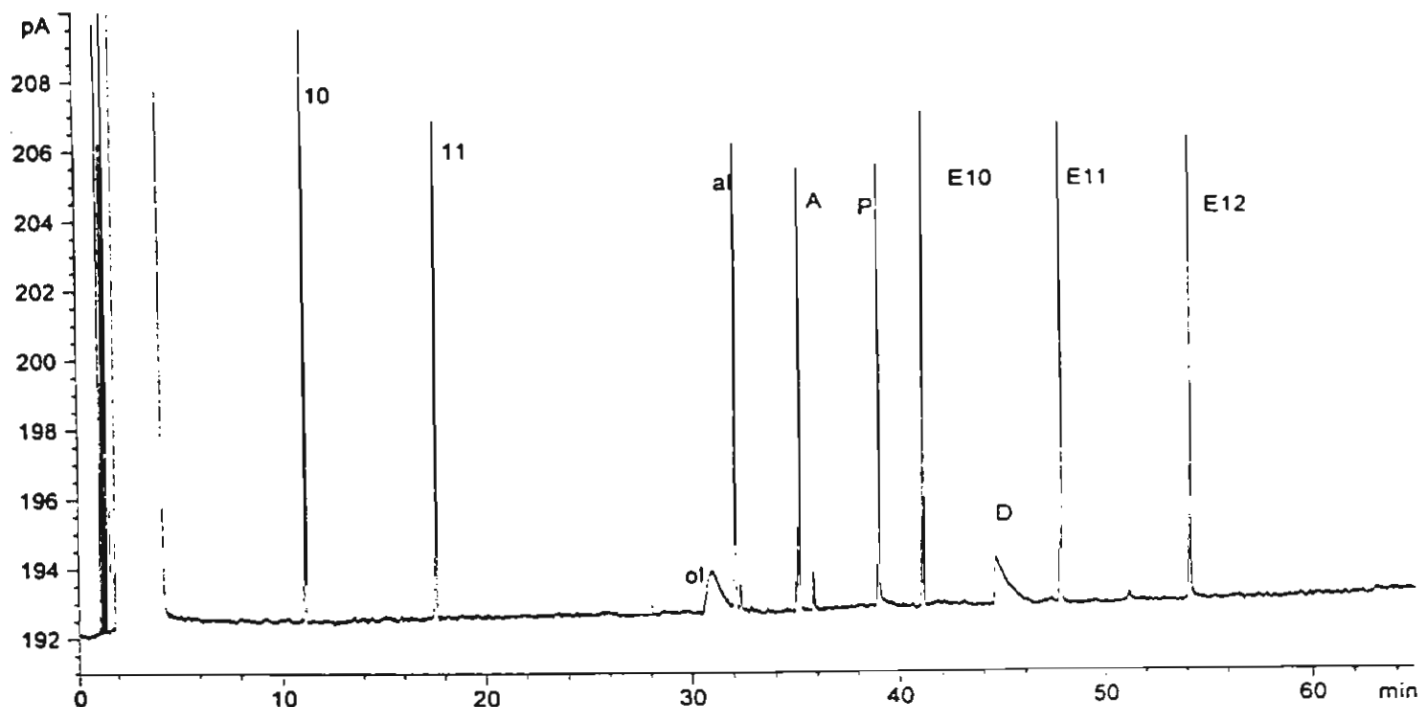
เฟสคงที่ในคอลัมน์ CD-2 ประกอบด้วย อนุพันธ์ (2) 25.5% ใน polysiloxane OV-1701 (คิดเป็นความเข้มข้น 0.12 M) เมื่อทดสอบคอลัมน์ที่เตรียมได้ด้วย Grob test (รูปที่ 2) พบว่าคอลัมน์ที่เตรียมได้มีประสิทธิภาพดี (ค่า TZ 43.7) พีกของสาร ol, al, และ am ไม่มีลักษณะ tailing และมีพื้นที่ใต้พีกเกือบจะใกล้เคียงกับพีกของแอลเคนหรือเอสเทอร์ แสดงว่าคอลัมน์นี้สามารถใช้วิเคราะห์สารได้หลายประเภท นอกจากนี้ยังสามารถแยกไอโซเมอร์และอีนันทิโอเมอร์ของสาร D (อย่างสมบูรณ์) และ S (ยังไม่สมบูรณ์) ได้ด้วย



รูปที่ 2 โครมาโทแกรมของ Grob mixture ที่ได้จากคอลัมน์ CD-2 ยาว 31.80 m เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm เคลือบด้วยอนุพันธ์ (2) 25.5% ใน polysiloxane OV-1701 เป็นเฟสคงที่ หนา 0.25 μm condition: temperature program จาก 40 ถึง 160 $^{\circ}\text{C}$ ด้วยอัตรา 1.57 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$

คอลัมน์ CD-3

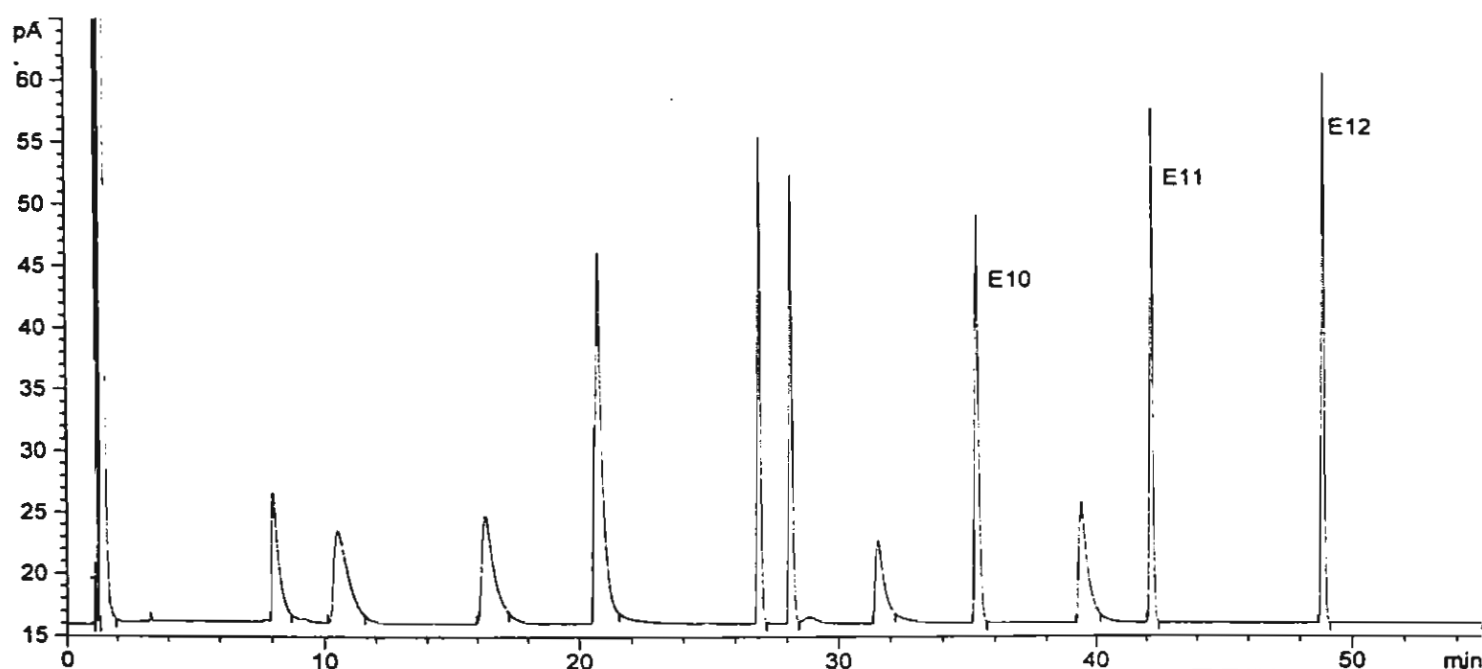
เฟสคงที่ในคอลัมน์ CD-3 ประกอบด้วย อนุพันธ์ (3) 30.3% ใน polysiloxane OV-1701 (คิดเป็นความเข้มข้น 0.12 M) เมื่อทดสอบคอลัมน์ที่เตรียมได้ด้วย Grob test (รูปที่ 3) พบว่าคอลัมน์ที่เตรียมได้มีประสิทธิภาพดี (ค่า TZ 38.6) แต่พีคของแอลกอฮอล์ ol และ D มีลักษณะ tailing อีกทั้งไม่ปรากฏพีคของกรดแก่ S และเบสแก่ am แสดงว่าคอลัมน์นี้ไม่เหมาะที่จะใช้วิเคราะห์สารกลุ่มแอลกอฮอล์, กรด และเอมีน เนื่องจากสารกลุ่มนี้เกิด adsorption กับเฟสคงที่ชนิดนี้ จึงไม่ปรากฏพีคหรือให้พีคที่ tailing



รูปที่ 3 โครมาโทแกรมของ Grob mixture ที่ได้จากคอลัมน์ CD-3 ยาว 30.23 m เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm เคลือบด้วยอนุพันธ์ (3) 30.3% ใน polysiloxane OV-1701 เป็นเฟสคงที่ หนา 0.25 μm condition: temperature program จาก 40 ถึง 160 $^{\circ}\text{C}$ ด้วยอัตรา 1.65 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$

คอลัมน์ CD-5 :

เฟสคงที่ในคอลัมน์ CD-5 ประกอบด้วย อนุพันธ์ (5) 34.0% ใน polysiloxane OV-1701 (คิดเป็นความเข้มข้น 0.12 M) เมื่อทดสอบคอลัมน์ที่เตรียมได้ด้วย Grob test (รูปที่ 4) พบว่าคอลัมน์ที่เตรียมได้มีประสิทธิภาพค่อนข้างดี (ค่า TZ 32.6) แต่พีกส่วนใหญ่มีลักษณะอ้วนและเตี้ยกว่าที่พบในคอลัมน์ CD-2 และ CD-3 ประกอบกับผลการทดสอบประสิทธิภาพด้วย *n*-alkane ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าคอลัมน์มีประสิทธิภาพดีที่อุณหภูมิสูง (N หรือจำนวนชั้นสมมุติ มีค่า > 3000 plates/m ที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 °C) และมีประสิทธิภาพลดลงเมื่ออุณหภูมิลดลง (N < 2000 plates/m ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 160 °C) แสดงว่าเฟสคงที่ชนิดนี้มีการแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิต่ำลง จึงมีช่วงการใช้งานแคบกว่าอีก 2 คอลัมน์

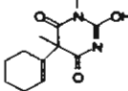
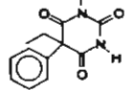
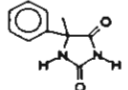
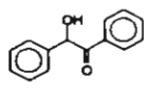
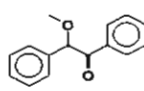
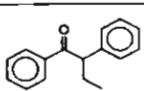
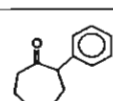
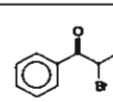
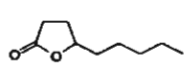
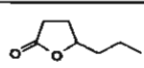
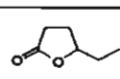
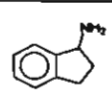
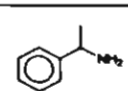
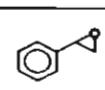


รูปที่ 4 โครมาโทแกรมของ Grob mixture ที่ได้จากคอลัมน์ CD-5 ยาว 30.24 m เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm เคลือบด้วยอนุพันธ์ (5) 34.0% ใน polysiloxane OV-1701 เป็นเฟสคงที่ หนา 0.25 μm condition: temperature program จาก 40 ถึง 160 °C ด้วยอัตรา 1.65 °C/min

การวิเคราะห์อีแนนทิโอเมอร์

ทำการทดสอบคอลัมน์ CD-2, CD-3 และ CD-5 ในการแยกอีแนนทิโอเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิกว้าง โดยเปรียบเทียบค่า retention factor (k') และ selectivity (α) ของการแยกที่อุณหภูมิต่างกัน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า retention factor และ selectivity ของอินแนนทิโอเมอร์ที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ CD-2, CD-3 และ CD-5

ลำดับ	สาร	อุณหภูมิ (°C)	คอลัมน์ CD-2		คอลัมน์ CD-3		คอลัมน์ CD-5	
			k_2'	α	k_2'	α	k_2'	α
1	hexobarbital 	220	4.16	1.030	4.02	1.000	2.75	1.000
2	mephobarbital 	220	4.91	1.026	4.85	1.000	3.23	1.000
3	5-methyl-5-phenylhydantoin 	220	8.14	1.014	7.66 t	1.000	-	-
4	benzoin 	180	12.03	1.021	a	a	-	-
5	benzoin methyl ether 	180	8.84	1.000	8.11	1.000	6.14	1.000
6	2-phenylbutyrophenone 	160	17.42	1.008	15.33	1.000	10.41	1.000
7	2-phenylcycloheptanone 	160	11.98	1.012	9.60	1.000	6.64	1.000
8	α -bromopropiophenone 	160	3.78	1.044	3.12	1.006	2.03	1.000
9	4-nonanolide 	160	4.29	1.033	5.58	1.040	2.10	1.000
10	4-heptanolide 	160	1.67	1.038	2.41	1.040	-	-
11	γ -caprolactone 	160	1.06	1.032	2.15	1.136	0.54	
12	1-aminoindan 	120	9.37	1.032	5.91 t	1.065	-	-
13	α -methylbenzylamine 	120	2.93	1.023	2.19 t	1.000	1.05	1.000
14	styrene oxide 	120	2.95	1.039	2.09	1.025	1.21	1.000