

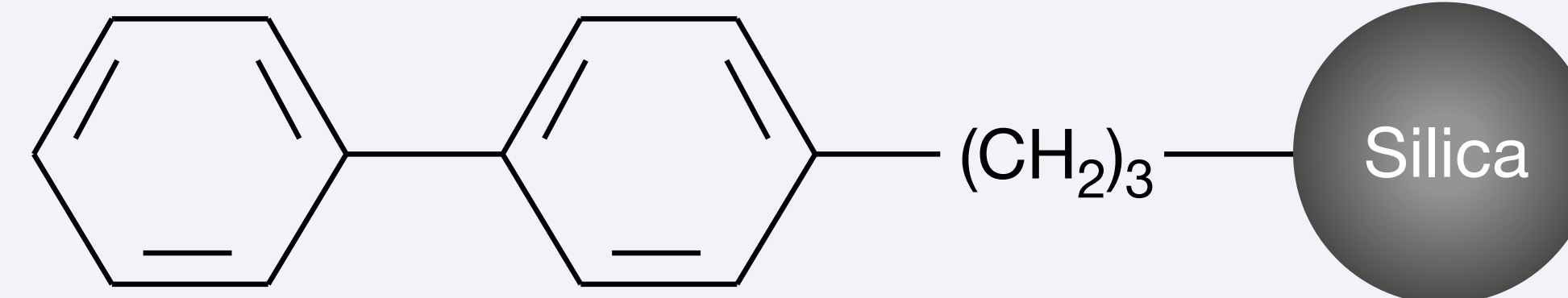
Arylmodifizierte Kieselgele stellen aufgrund ihrer π -Elektronen eine interessante Alternative zu alkylsubstituierten Sorbentien in der RP-Chromatographie dar [1, 2]. Sie sind als Kohlenwasserstoffe ausreichend inert und zeigen zusätzlich zu den hydrophoben Eigenschaften durch das konjugierte Elektronensystem π , π -Wechselwirkungen. Phenylpropyl-, Phenylhexyl- und auch Biphenylliganden sind allerdings aufgrund ihrer Kohlenstoffzahl in der Wechselwirkungsstärke eher mit Octyl- als mit Octadecylgruppen zu vergleichen. Um die Hydrophobie zu erhöhen, wird bei dem Sorbens NUCLEODUR® π^2 ein Propylspacer zwischen Biphenylgruppe und Silica verwendet [3]. Dies führt zusammen mit der optimierten Reaktionsführung zu einer hohen Belegungsichte. Die Wechselwirkungsstärke der Phase ist vergleichbar mit der Octadecylphase NUCLEODUR® C₁₈ Gravity [3].

In seiner Selektivität unterscheidet sich NUCLEODUR® π^2 als Biphenylphase deutlich von Alkylphasen. Einige Substanzklassen, wie zum Beispiel Nitroaromaten, Sulfonamide, Steroidstrukturen und mehrkernige Aromaten, zeigen ausgesprochen starke Wechselwirkungen mit dem Biphenylsystem. Es wird hier an vier Beispielen der Einfluss des organischen Modifiers (Acetonitril vs. Methanol) vorgestellt.

NUCLEODUR® π^2

Porenweite: 110 Å
Porenvolumen: 0,9 mL/g
Ligand: Biphenylpropyl (USB L11)

Oberfläche: 340 m²/g
pH-Stabilität: 1,5–10
Kohlenstoffgehalt: 17 %

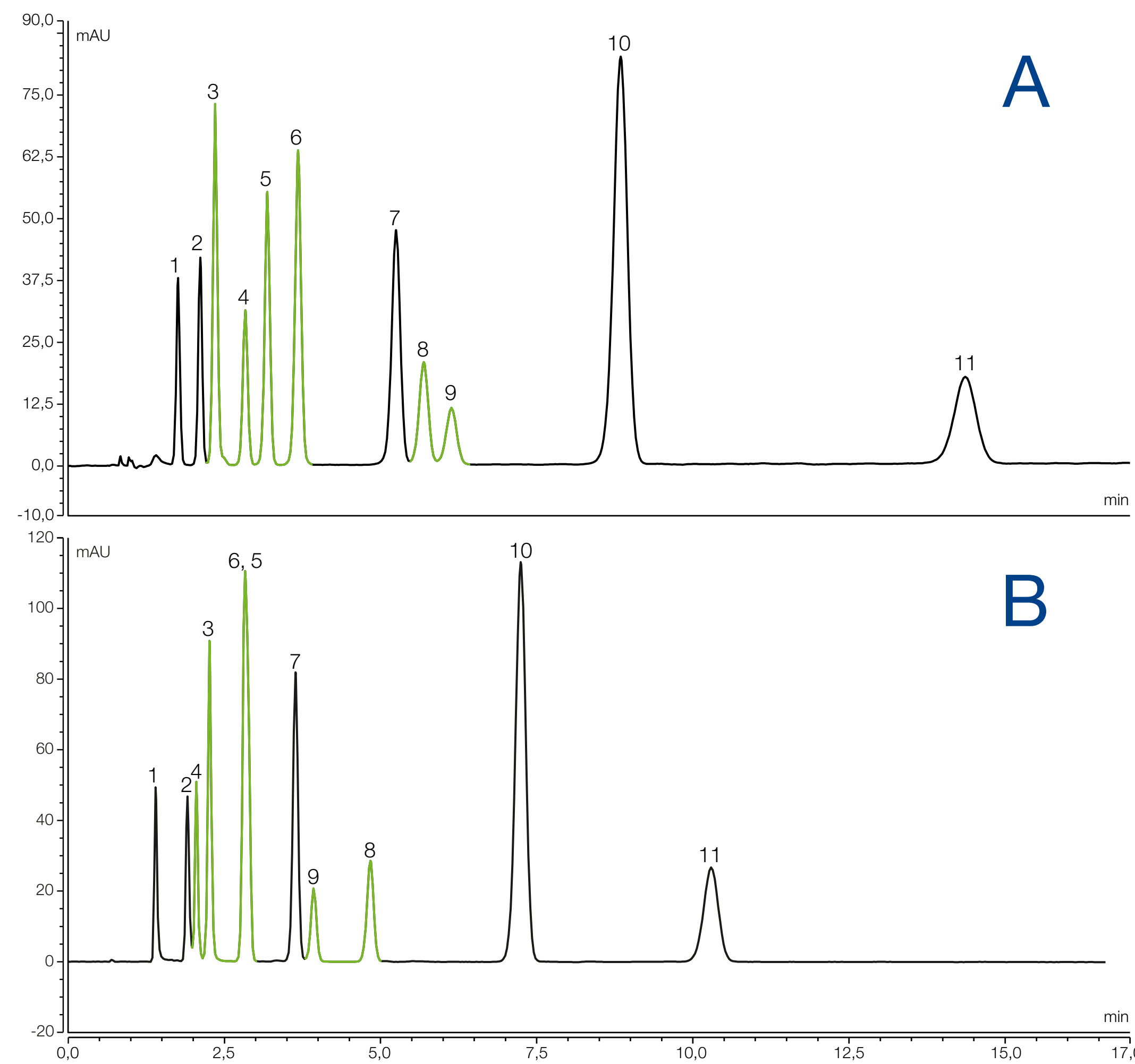


Geeignet für rein wässrige Eluenten



Resultate

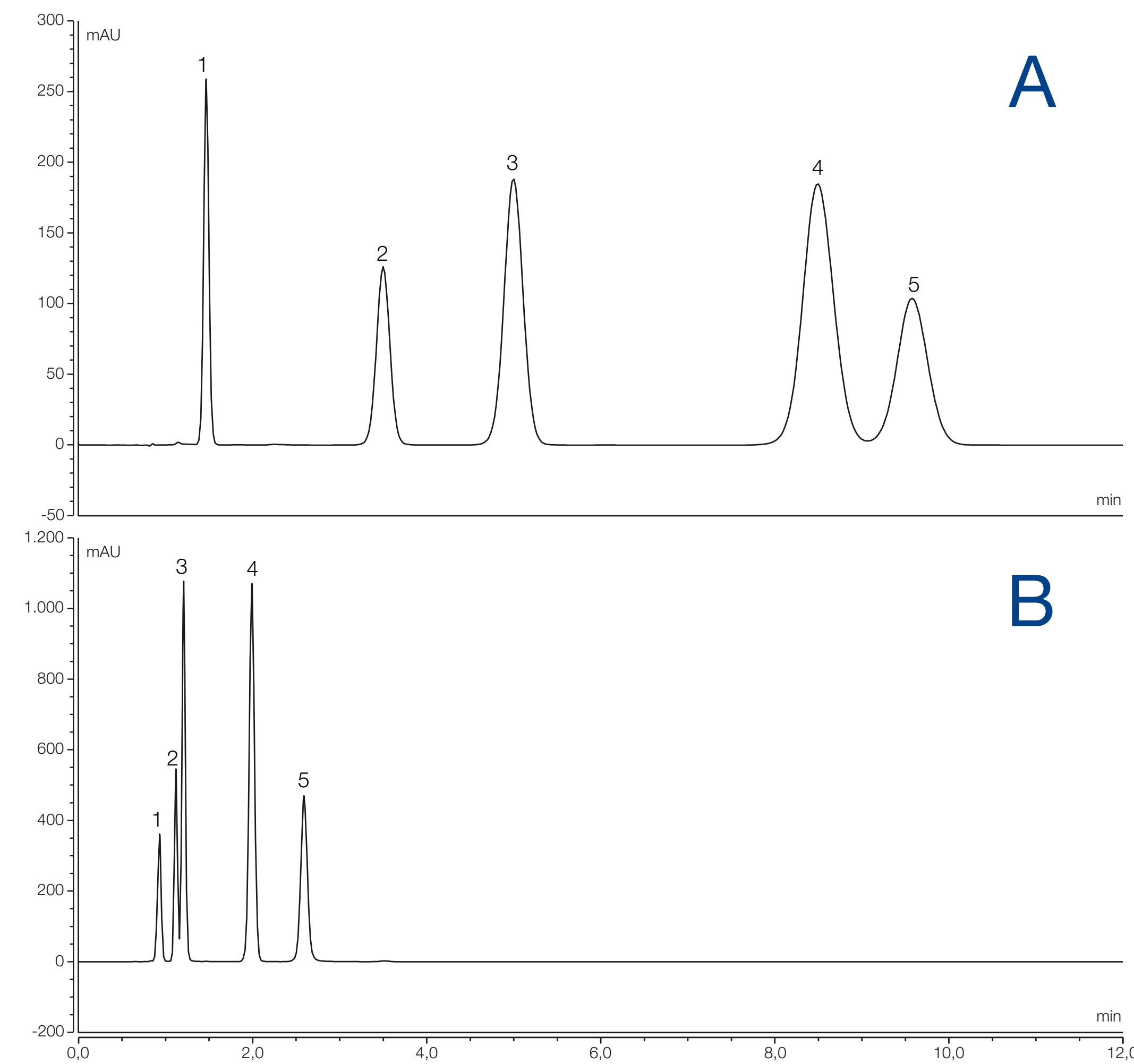
Abb. 1: Trennung von substituierten Aromaten



1. Methylparaben
2. 4-Chlorphenol
3. 2,6-Dimethylphenol
4. Acetophenon
5. Anisol
6. Nitrobenzol
7. 2-Nitrotoluol
8. o-Xylol
9. Butyrophenon
10. Propylbenzol
11. Butylbenzol

Bedingungen: *
Säule: 100 mm x 3 mm
NUCLEODUR® π^2
Flussrate: 0,56 mL/min
Temperatur: 25 °C
Injektionsvolumen: 0,5 μ L
Detektion: UV, 230 nm
A: MeOH/Wasser
65/35 (v/v)
B: ACN/Wasser
50/50 (v/v)

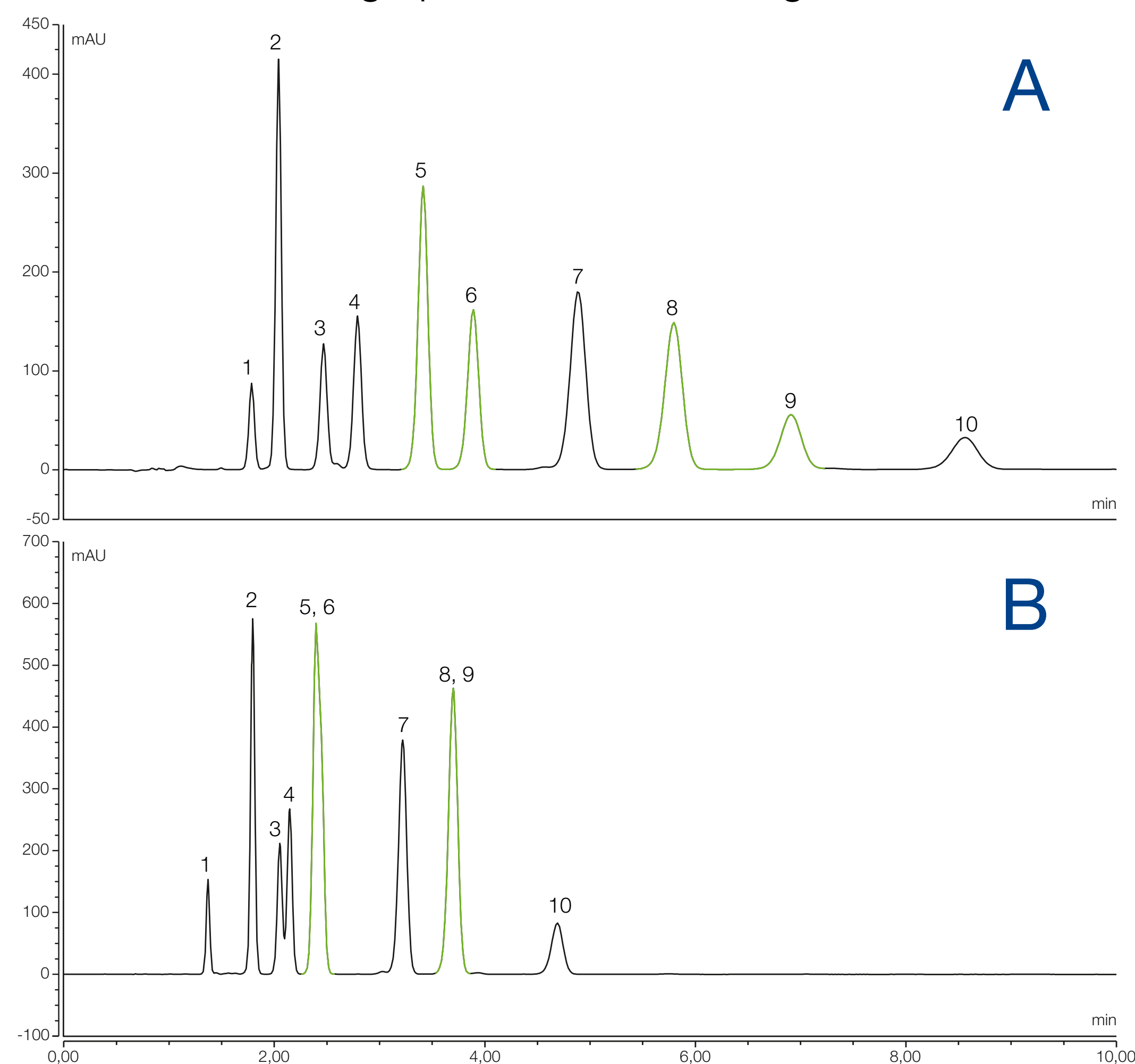
Abb. 3: Trennung von Steroiden



1. Estriol
2. Hydrocortison
3. Cortison
4. Cortisonacetat
5. Estron

Bedingungen: *
Säule: 100 mm x 3 mm
NUCLEODUR® π^2
Flussrate: 0,56 mL/min
Temperatur: 25 °C
Injektionsvolumen: 0,5 μ L
Detektion: UV, 230 nm
A: MeOH/Wasser
75/25 (v/v)
B: ACN/Wasser
59/41 (v/v)

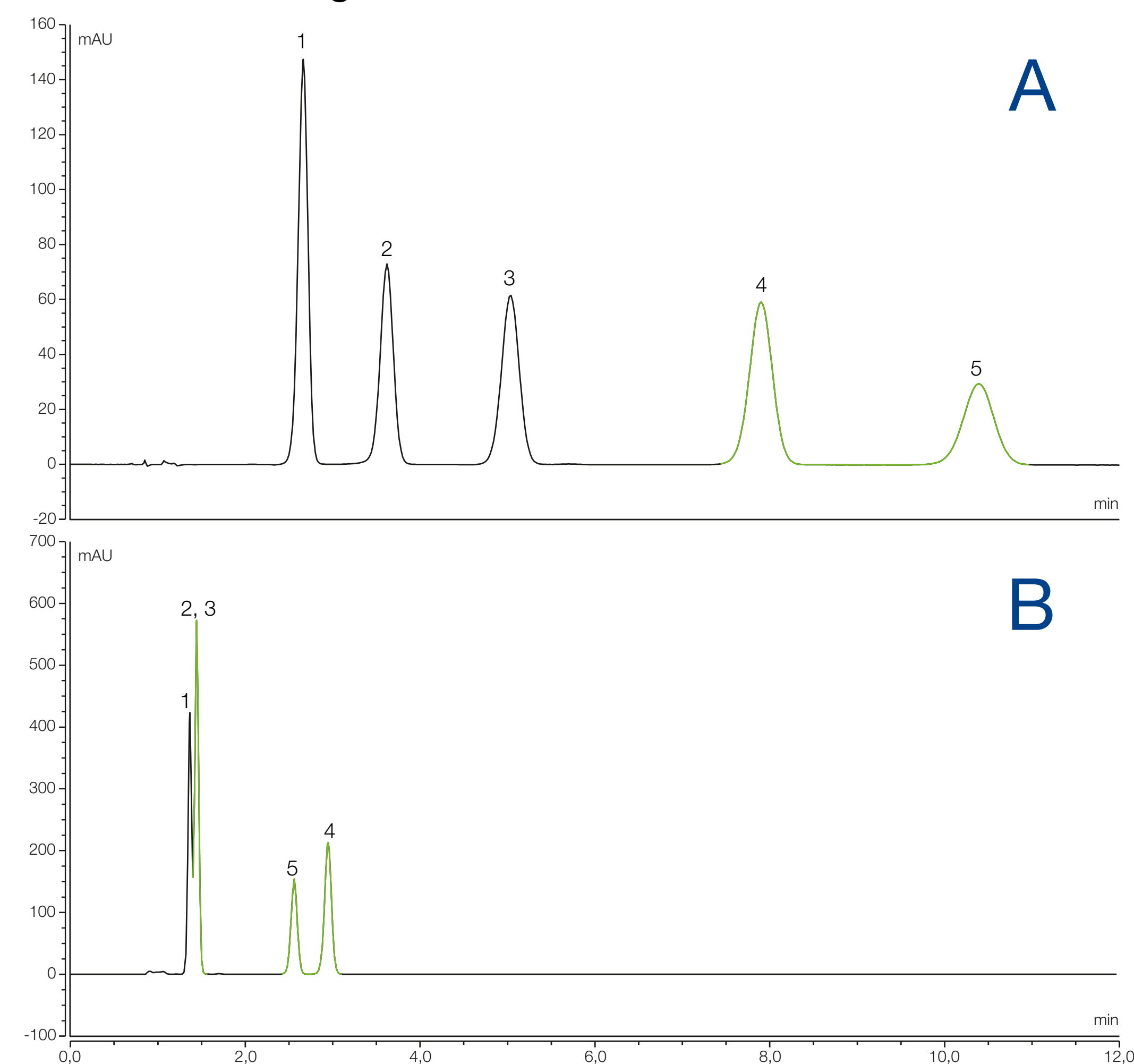
Abb. 2: Chromatographie von mehrkernigen Aromaten



1. Diphenylsulfon
2. Naphthalin
3. Acenaphthylen
4. Biphenyl
5. Acenaphthen
6. Fluoren
7. o-Terphenyl
8. Pyren
9. m-Terphenyl
10. Triphenylen

Bedingungen: *
Säule: 100 mm x 3 mm
NUCLEODUR® π^2
Flussrate: 0,56 mL/min
Temperatur: 25 °C
Injektionsvolumen: 0,5 μ L
Detektion: UV, 210 nm
A: MeOH/Wasser
85/15 (v/v)
B: ACN/Wasser
75/25 (v/v)

Abb. 4: Trennung von Sulfonamiden



1. Sulfadiazin
2. Sulfachloropyridazin
3. Sulfadimidin
4. Sulfameracin
5. Sulfamethoxazol

Bedingungen: *
Säule: 100 mm x 3 mm
NUCLEODUR® π^2
Flussrate: 0,56 mL/min
Temperatur: 25 °C
Injektionsvolumen: 0,5 μ L
Detektion: UV, 280 nm
A: MeOH/Wasser, 0,1 % TFA
35/65 (v/v)
B: ACN/Wasser, 0,1 % TFA
31/69 (v/v)

* LC system: Vanquish UHPLC System with PDA der Fa. Thermo Scientific; PDA-Detektion: 200–350 nm. Die Acetonitrilkonzentration mit vergleichbarer Elutionsstärke wurde experimentell mit einer ODS-Phase (ausgeschlossen von der Waals Wechselwirkungen) für jede Testmischung ermittelt.

Die Wechselwirkungsstärke von NUCLEODUR® π^2 wird beeinflusst durch die Wahl des Modifiers Methanol oder Acetonitril. Bei allen hier untersuchten Verbindungen erhöht sich der Kapazitätsfaktor bei der Verwendung von Methanol im Vergleich zu Acetonitril deutlich. Eine vergleichbare Elutionskraft der Gemische wurde vorher für jedes Testgemisch mit Hilfe einer basendesaktivierten Octadecylphase (NUCLEODUR® C₁₈ Gravity) eingestellt. In Abb. 1 werden aromatische Verbindungen mit unterschiedlichen Substituenten getrennt. Die Kapazitätsfaktoren erhöhen sich bei Verwendung von Methanol um moderate 14 bis 68 Prozent. Dies führt bei den grün markierten Verbindungen zur Änderung der Elutionsreihenfolge oder zu Coelutionen im Acetonitrilchromatogramm. Bei Arylverbindungen mit mehreren oder größeren π -Systemen (Abb. 2) vergrößert sich der Einfluss des Methanols auf die Wechselwirkungsstärke geringfügig. Die Kapazitätsfaktoren werden gegenüber Acetonitril um 23 bis 107 Prozent erhöht. Auch hier ändert sich die Selektivität der Phase bei Wechsel des Modifiers. Koeluiierende Verbindungen bei Verwendung von Acetonitril werden durch Methanol getrennt. Steroidale Strukturen (Abb. 3) werden in Gegenwart von Methanol auf der NUCLEODUR® π^2 sehr stark retardiert. Die Kapazitätsfaktoren von Estradiol und Estron mit ihren aromatischen Systemen werden dabei nur mäßig um den Faktor 3,5 und 4,7 erhöht. Die Corticoide mit einer α , β -ungesättigten Ketonfunktion weisen dagegen hohe Werte zwischen 6,1 und 8,7 auf. Auch andere verwandte Verbindungen wie Testosteron oder Prednison zeigen diesen Effekt. Sulfonamide (Abb. 4) werden bei einem Wechsel von Acetonitril zu Methanol stärker retardiert. Hier konnten Faktoren von 3 und 5,3 beobachtet werden. Bei Sulfamerazin und Sulfamethoxazol kommt es dabei neben der Retentionszeitverschiebung zu einer Umkehr der Elutionsreihenfolge.

Fazit

NUCLEODUR® π^2 zeigt eine Korrelation der Wechselwirkungsstärke in Abhängigkeit von Modifier und Analyt. Dabei ändert sich in vielen Fällen auch die Selektivität. Dies eröffnet dem Anwender interessante Möglichkeiten zur Optimierung seiner Trennungen. Ein ausgedehntes π -System ist dabei nicht erforderlich, wie das Beispiel der Corticoide zeigt.

Literatur

- [1] M. R. Euerby, P. Peterson, W. Campbell, W. Roe J. Chromatogr. A 1154, 2007, 138–151.
- [2] K. Croes, A. Steffens, D. H. Marchand, L. R. Snyder J. Chromatogr. A 1098, 2005, 123–130
- [3] Helmut Riering, Natalie Bilmann, Giovanna Cozzupoli, 2016 Comparison of various aryl and alkyl modified sorbents in RP chromatography, Poster ISC 2016, Cork (Online verfügbar unter: www.mn-net.com/NUCLEODUR (Poster: Comparison of RP sorbents)).