

Phenylová selektivita

Autor: **Jan Vlasák**

Srovnání selektivity

C18/C8

- Nejrutinněji užívaný RP přístup
- Analyty - nepolární/mírně polární
- RT mechanismus:
 - Hydrofobní interakce
- St. složení MP: Voda + ACN/MeOH

Phenylová (F5, PFP, Biphenyl, phenyl-alkyl)

- Méně užívaný RP přístup
- Analyty - komplexní směsy (aromatické, polární, bazické látky)
- RT mechanismus:
 - π - π interakcí
 - Vodíkové můstky
 - Dipol-dipol
 - Hydrofobní
- St. složení MP – Voda + ACN:MeOH

Phenylová selektivita – vliv organiky

Methanol

- Podpora π - π interakce
- Oslabuje hydrofobicitu

Acetonitril

- Podpora hydrofobních interakcí
- Oslabuje π - π interakce
 π -elektrony $C\equiv N$
narušují π - π
interakci analyt vs
fáze

Experiment

- **Instrumentace** – Agilent 1200 +API 4000 (Sciex) – LC/MS/MS
- **Standardy opioidů** (Cerilliant Corporation), Reagencie (JT Baker)
 - Morfin
 - Hydromorfon
 - Kodein
 - Hydrokodon
 - Diazepam
- **Kolony:** KINETEX 50x4,6x2,6 um (core shell)
 - C18
 - F5
 - Biphenyl
 - Phenyl hexyl

Podmínky separace

- **RT mechanismus** – RP, gradientová eluce

HPLC Conditions

Mobile Phase: A: Water with 0.1 % Formic acid
B: 0.1 % Formic acid in a solution of Methanol with Acetonitrile in ratios of 20 % increments:
100 % Methanol
80:20 Methanol/Acetonitrile
60:40 Methanol/Acetonitrile
40:60 Methanol/Acetonitrile
20:80 Methanol/Acetonitrile
100 % Acetonitrile

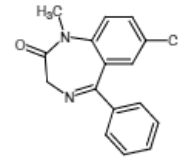
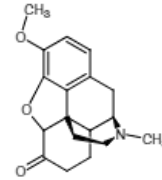
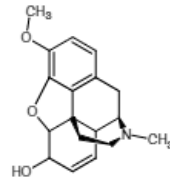
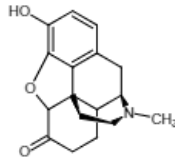
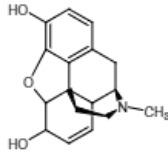
Gradient: 15% B to 95% B over 4 minutes

Flow Rate: 800 μ L/min

Temperature: Ambient

Analyty

Table 1. Structures and Chemical Properties



Structure	Morphine	Hydromorphone	Codeine	Hydrocodone	Diazepam
LogP	0.90	1.47	1.34	1.96	3.08
LogD (pH2.7)	-2.30	-1.69	-2.16	-1.54	2.65

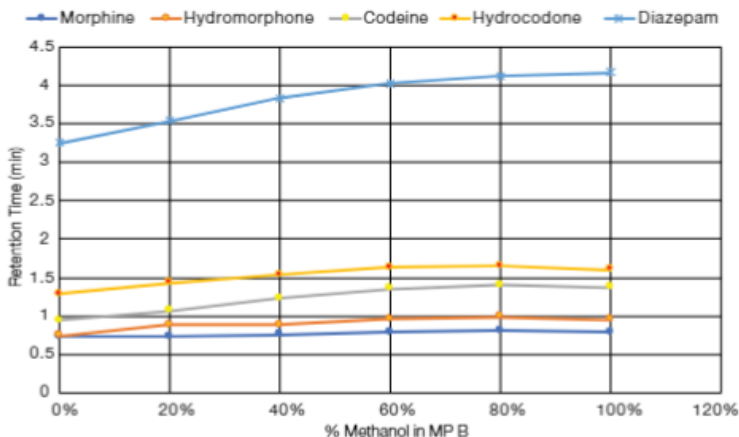
Srovnání 1

Kinetex C18

- RT mechanismus – hydrofobní (nejsilnější)

Figure 1.

Kinetex® C18 Solvent Effect

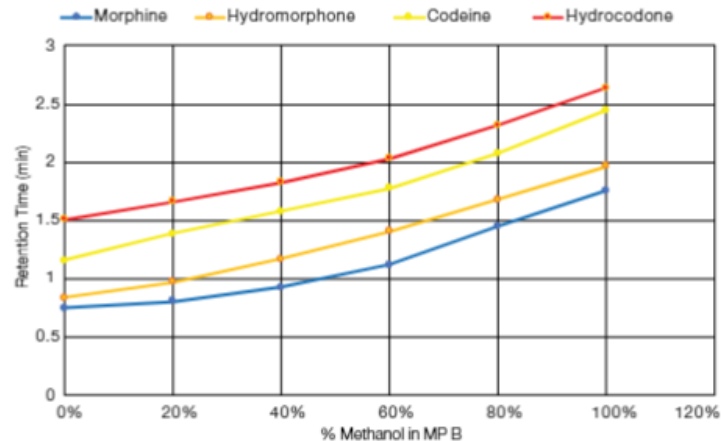


Kinetex Biphenyl

- RT mechanismus - π - π interakce (nejsilnější)

Figure 2.

Kinetex Biphenyl Solvent Effect

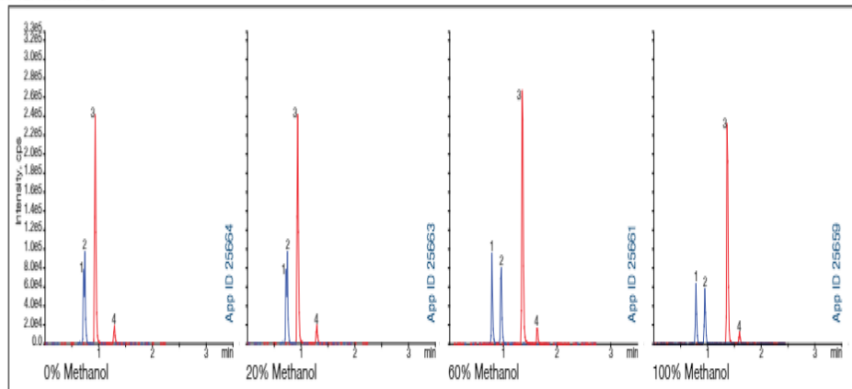


Srovnání 1

Přídavek ACN má:

- Menší vliv na retenci, než u Biphenyl

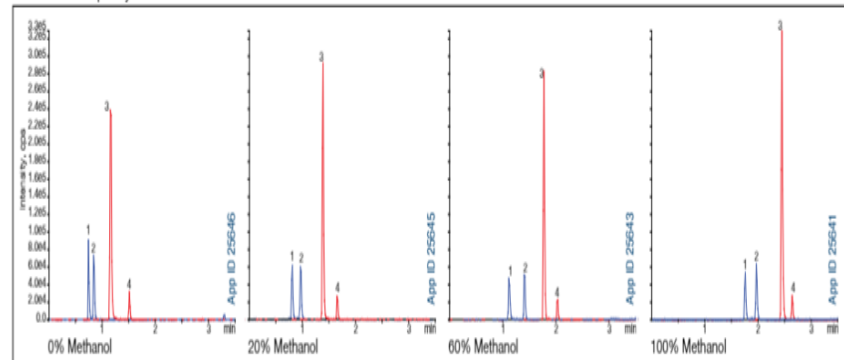
Figure 12. Kinetex C18



Přídavek ACN má

- Větší vliv na retenci, než u C18

Figure 9. Kinetex® Biphenyl



Srovnání 1

➤ Vyšší retence nutně
neznámá vyšší
selektivitu

➤ $\alpha = 1.76$; MeOH 20%

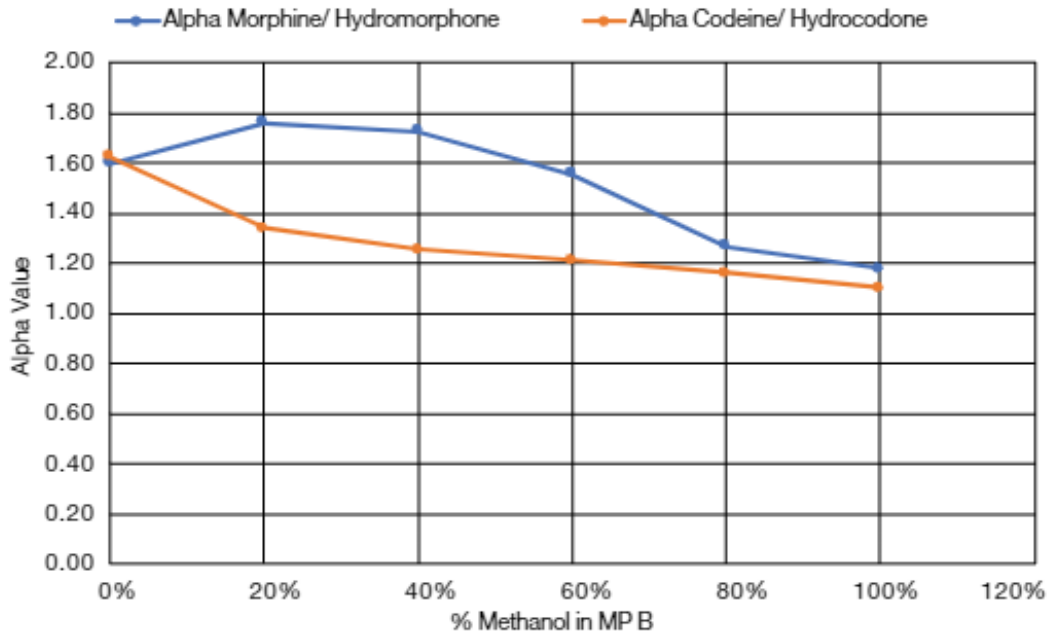
➤ $\alpha = 1.18$; MeOH 100%

➤ $\alpha = 1.63$; MeOH 0%

➤ $\alpha = 1.10$; MeOH 100 %

Figure 3.

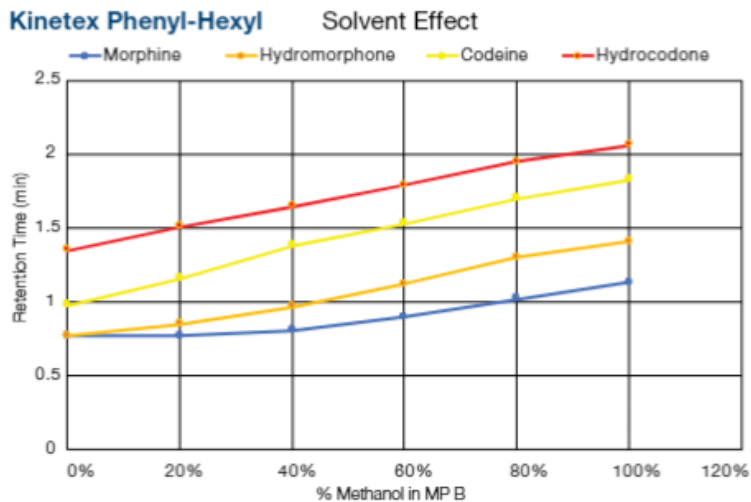
Kinetex Biphenyl Solvent Effect on Selectivity



Srovnání 2

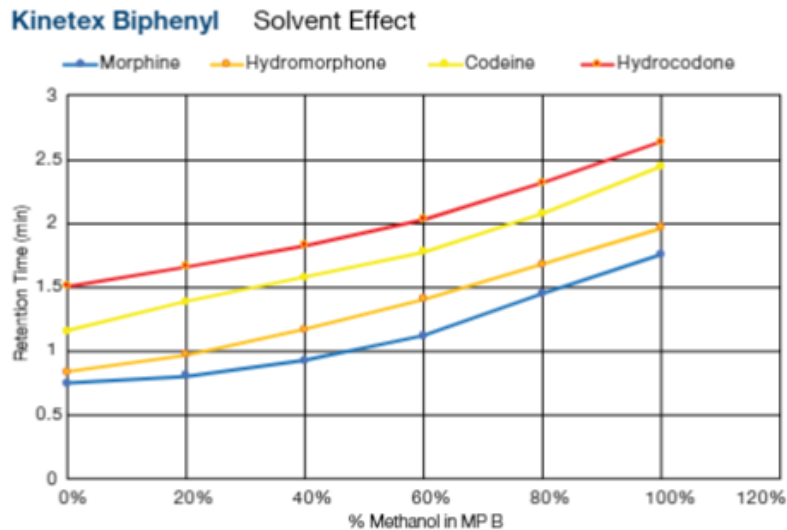
Kinetex phenyl-hexyl

Figure 4.



Kinetex biphenyl

Figure 2.

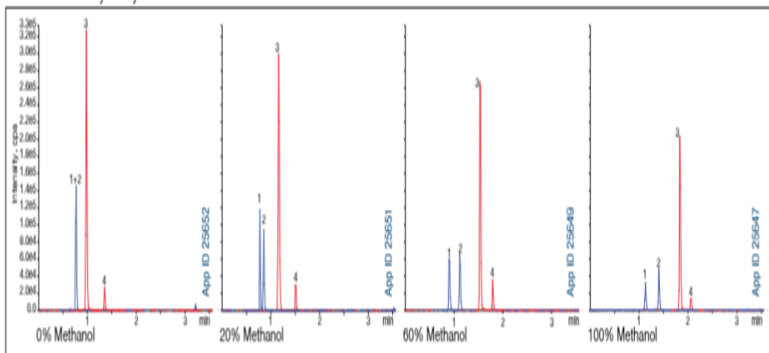


Srovnání 2

Přídavek ACN má:

- Menší vliv na aromaticitu (1 phenylový kruh), ale větší vliv na hydrofobicitu – C6 linker

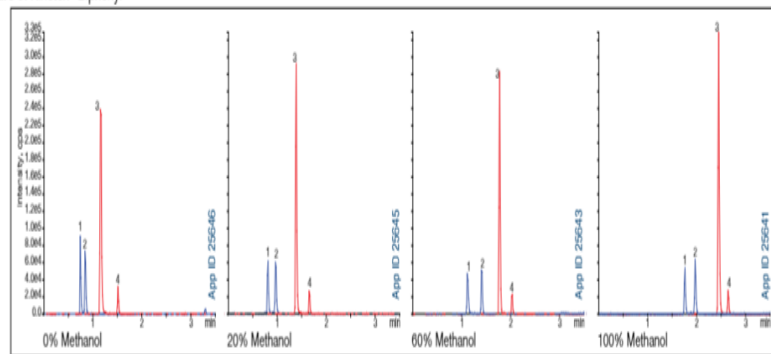
Figure 10. Kinetex Phenyl-Hexyl



Přídavek ACN má:

- Větší vliv na aromaticitu (2 phenylové kruhy), ale menší vliv na hydrofobicitu

Figure 9. Kinetex® Biphenyl



Srovnání 2

➤ Vyšší retence nutně neznamená vyšší selektivitu

➤ $\alpha = 1,76$; MeOH 40%

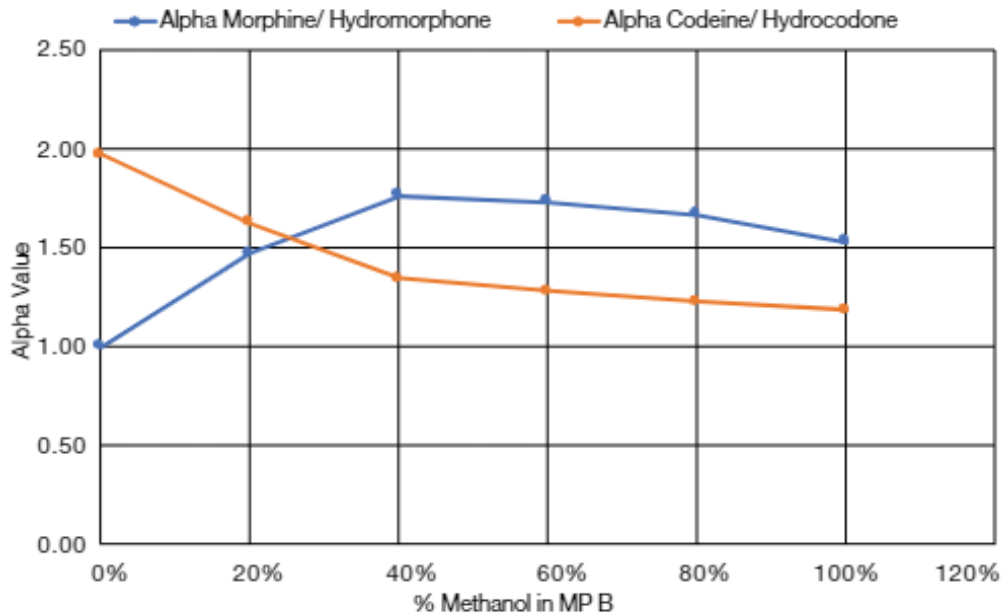
➤ $\alpha = 1$; MeOH 0%

➤ $\alpha = 1,97$; MeOH 0%

➤ $\alpha = 1.19$; MeOH 100 %

Figure 5.

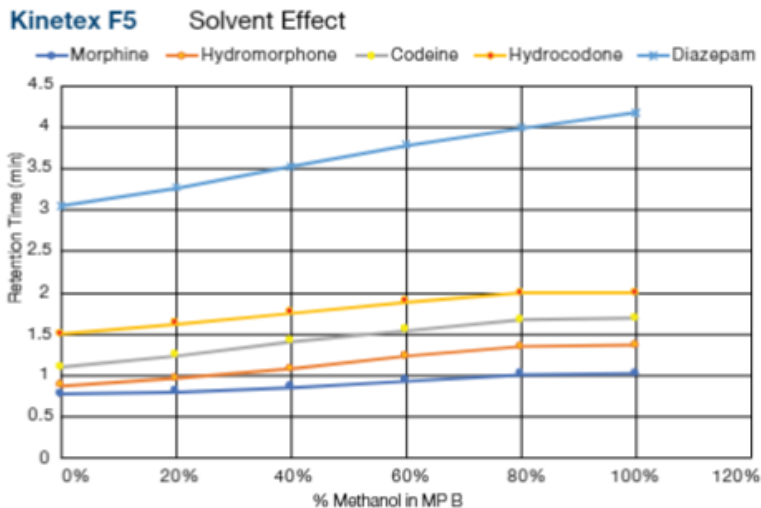
Kinetex® Phenyl-Hexyl Solvent Effect on Selectivity



Srovnání 3

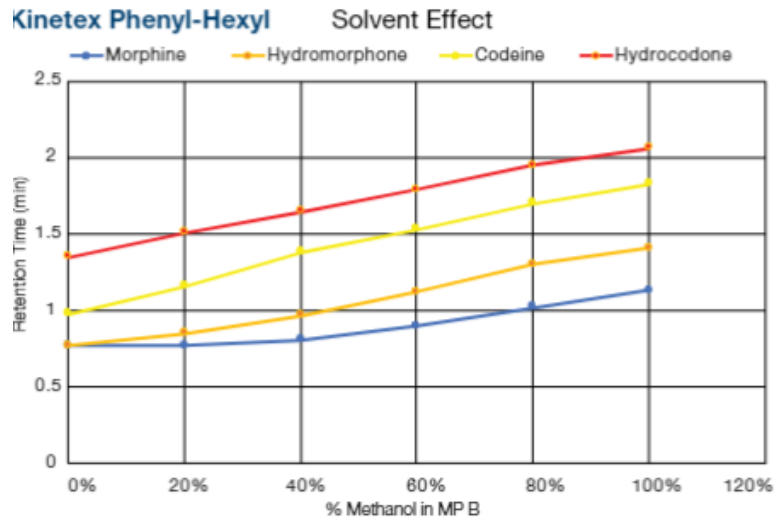
Kinetex F5

Figure 6.



Kinetex phenyl hexyl

Figure 4.

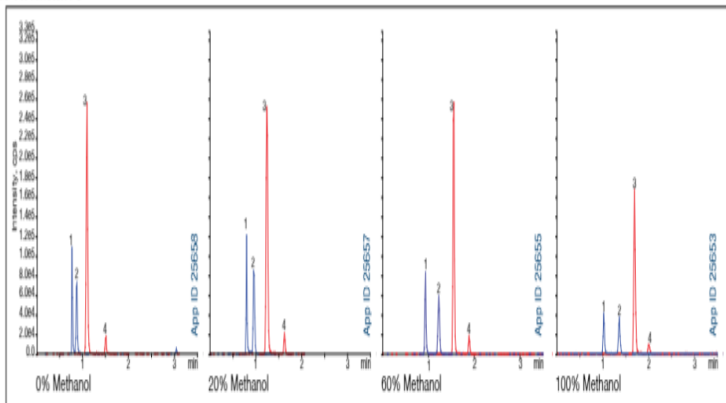


Srovnání 3

Přídavek ACN má:

- Stejný vliv na π - π interakce pro obě fáze (1 phenylový kruh)

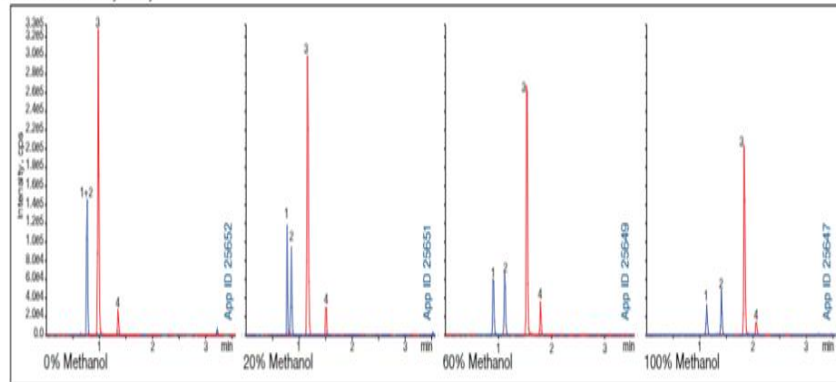
Figure 11. Kinetex F5



Přídavek ACN má:

- Menší vliv na hydrofobicitu (propyl linker)

Figure 10. Kinetex Phenyl-Hexyl

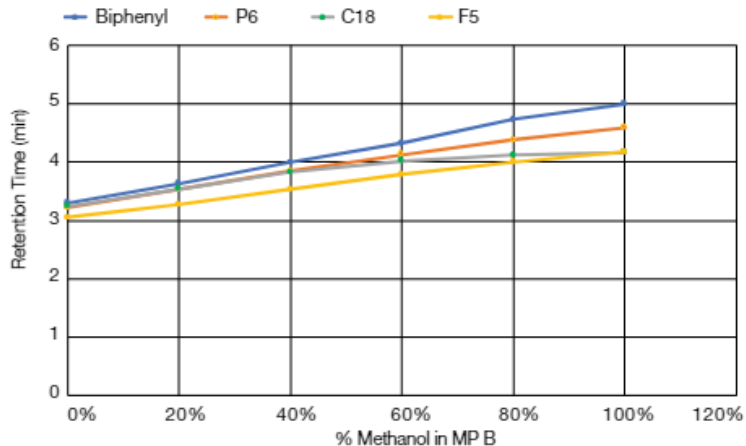


Srovnání retence

Diazepam

Figure 8.

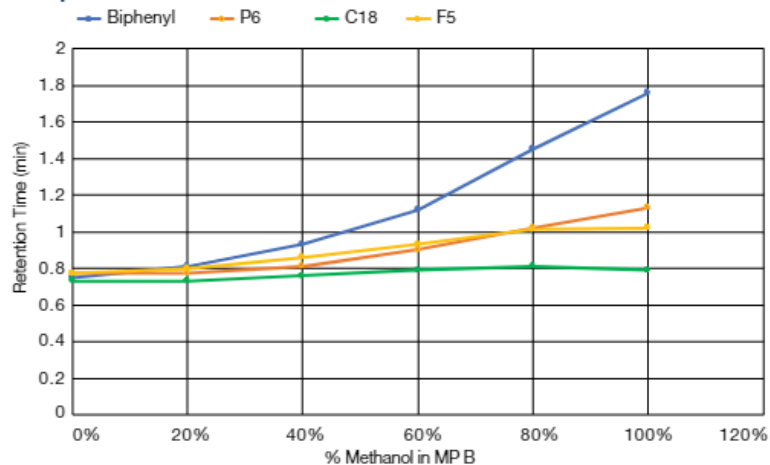
Diazepam Solvent Effect



Morfin

Figure 7.

Morphine Solvent Effect



Shrnutí – phenylová selektivita

➤ Pro Fáze F5, PFP, Biphenyl, phenyl-alkyl

- MeOH podporuje π - π interakce a tedy aromatickou selektivitu
- ACN podporuje hydrofobní selektivitu
- π - π interakce nejsou nikdy zcela potlačeny v přítomnosti alespoň části MeOH
- Přítomnost ACN nesnižuje pouze protitlak, ale může pomoci zvýšit rozlišení separace směsi podporou hydrofobicity
- Nalezení správného poměru MeOH:ACN má pozitivní vliv na separaci komplexních směsí z hlediska selektivity i výsledné viskozity MP

Shrnutí phenylová selektivita

➤ Kinetex F5

- π - π interakce slabší než Biphenyl (jeden kruh)
- Hydrofobní interakce slabší než Phenyl-hexyl (propyl)
- Fluor dodává – unikátní selektivitu (dipol-dipol, indukovaný dipol, vodíkové můstky)

➤ Kinetex Biphenyl

- Nejsilnější π - π interakce – polární, bazické látky zadrží nejlépe
- Povaha slabého katexu v přítomnosti MeOH (vysoký podíl π e-), 2 phenylové kruhy
- Nejslabší hydrofobní interakce

➤ Kinetex phenyl hexyl

- Nejsilnější hydrofobní interakce
- π - π interakce slabší než Biphenyl (jeden kruh)

Experiment

- <https://phenomenex.highspot.com/items/5dd3061ba2e3a977c6f18493?lfrm=srp.0#1>

Děkuji