

Applikation

► Paralleles Screening der chiralen Trennung von Methylphenylsulfoxid



Kategorie	Chirale Analyse
Matrix	
Methode	HPLC
Schlagwörter	paralleles chirales Screening, chirale stationäre Phasen auf Cellulosebasis, Eurocel 01, Eurocel 02
Analyten	Methylphenylsulfoxid
ID	VCR1, Januar 2008

Zusammenfassung

Mit einem parallelen HPLC-System kann ein systematischer Eignungstest (screening) mit hohem Durchsatz für chirale Säulen realisiert werden. Fünf unterschiedliche chirale Phasen, deren aktive Beschichtung auf Polysacchariden basiert, wurden untersucht, um die am besten für die Trennung von Methylphenylsulfoxid geeignete zu finden. Eine schnelle Aufbereitung von 48 Chromatogrammen der chiralen Trennung wird demonstriert, wobei unterschiedliche Lösungsmittelmischungen im Normalphasen- oder polar-organischen Modus zum Einsatz kommen.

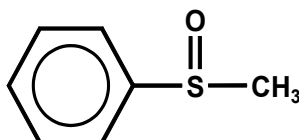
Einleitung

Weil bisher keine gute Theorie oder empirische Korrelation zwischen den getrennten Molekültypen und der chiralen stationären Phase (CSPs) existiert, ist die systematische Untersuchung des jeweiligen Trennproblems mit einer Reihe von CSPs in Kombination mit unterschiedlichen mobilen Phasen der einzige praktikable Ansatz, um die Trennaufgabe zu lösen. Um die Enantioselektivität der Sulfoxidation von Thioanisol und verwandten Verbindungen mit Hilfe von Chlorperoxidase und Wasserstoffperoxid zu untersuchen, kann eine chirale HPLC-Methode sich als nützlich erweisen [1, 2]. Zunächst muss eine Trennmethode für das racemische Gemisch von Methylphenylsulfoxid gefunden werden. Im Fall von Methylphenylsulfoxid wurden verschiedene stationäre Phasen mit einer Beschichtung derivatisierter Cellulose oder Polysacchariden alternativer Selectivität untersucht.

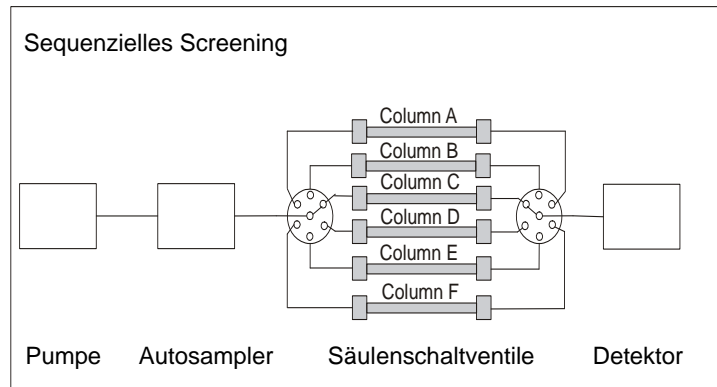
Experimentelles

Bei der Standardmethode des Screenings werden die CSPs nacheinander untersucht (Abb. 1). Verschiedene auf Cellulose basierende Eurocel-Säulen und eine Säule mit Polysaccharidbeschichtung alternativer Selektivität (PS a.S.) in der Größe 250 x 4,6 mm kommen zum Einsatz. Im parallelen Screening-Ansatz (Abb. 2) ist es möglich, bis zu acht unterschiedliche Säulen gleichzeitig zu kombinieren. Bei diesem Aufbau ist der Lösungsmittelstrom der HPLC-Pumpe in 8 Kanäle aufgeteilt. Ein Flusssteuerungsmodul sorgt für identische Flussraten in allen Kanälen.

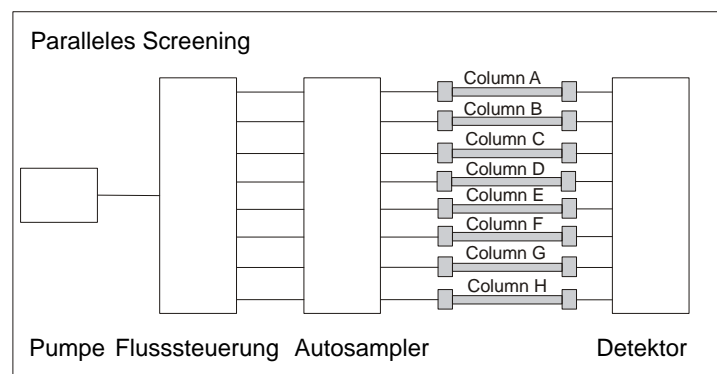
Chemische Struktur



Methylphenylsulfoxid

**Abb. 1**

Schema für sequenzielles Screening chiraler Säulen

**Abb. 2**

Schema für paralleles Screening chiraler Säulen

Methodenparameter

Säulen (250 x 4,6 mm)	Eurocel 01, 3 µm, 5 µm and 20 µm Eurocel 02, 5 µm Eurocel 03, 5 µm Eurocel 04, 5 µm Polysaccharidphase alternat. Selektivität 3 µm u. 10 µm
Eluent A	Hexan / Ethanol 90:10
Eluent B	Hexan / Ethanol 75:25
Eluent C	Hexan / 2-Propanol 90:10
Eluent D	Hexan / 2-Propanol 75:25
Eluent E *	Ethanol
Eluent F *	Ethanol / Methanol 50:50
Flussrate	1 ml/min (* 0,5 ml/min)
Injektionsvolumen	5 µl
Säulentemperatur	Raumtemperatur
Detektion	UV (Diodenarray-Detektor) bei 210 nm
Messdauer	30 min

Ergebnisse

Die sequenzielle Untersuchung von 48 chromatografischen Läufen des racemischen Gemischs von Methylphenylsulfoxid mit unterschiedlichen Säulen und Eluentengemischen kann bei einer programmierten Messdauer von 30 Minuten in 24 Stunden durchgeführt werden. Das gleiche Screening benötigt mit der parallelen Technik nur 1/8 der Zeit. Die Ergebnisse (Abb. 3) können in 3 Stunden erhalten werden. Die visuelle Auswertung der Chromatogramme zeigt die beste Trennung auf Eurocel 01 und Eurocel 02 Säulen jeweils mit dem Gemisch aus Hexan/2-Propanol. Die resultierenden Parameter der Integration wurden herangezogen, um eine Hitliste der Trennungen aufzustellen (Tab. 1). Es zeigte sich, dass die benzoat-modifizierte (Eurocel 02) und die 3,5-Dimethylphenylcarbammat-modifizierte Cellulose-Phase (Eurocel 01) am besten für die Trennaufgabe geeignet sind. Abbildung 4 zeigt die chirale Trennung der racemischen Mischung mit der besten chromatografischen Auflösung.

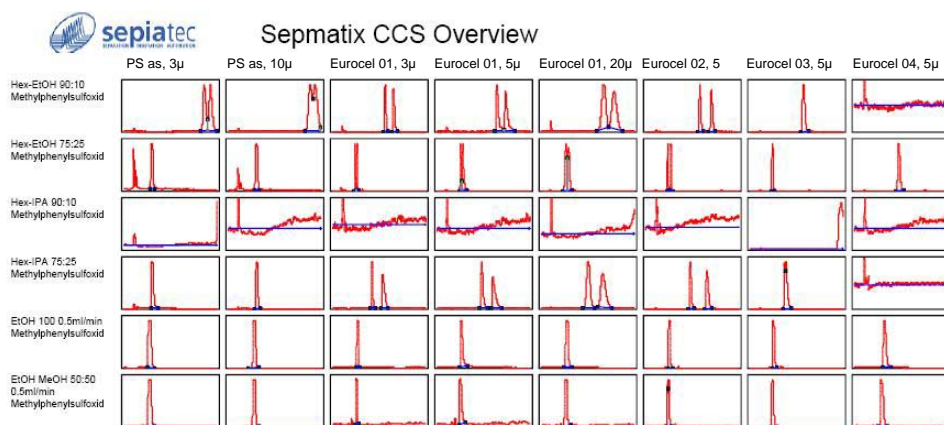


Abb. 3

Chromatogrammübersicht aller 48 Läufe für die Trennung von Methylphenylsulfoxid

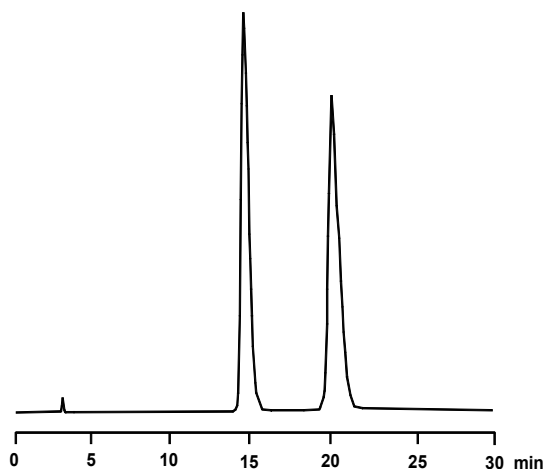
Tabelle 1

Hitliste der chiralen Trennung von Methylphenylsulfoxid

Nr.	Säulentyp	Eluent	t_{R1} [min]	t_{R2} [min]	Selectivität
1	Eurocel 02, 5 µm	Hex-IPA 75:25	14,32	19,68	1,42
2	Eurocel 02, 5 µm	Hex-EtOH 90:10	17,42	21,10	1,23
3	Eurocel 01, 3 µm	Hex-IPA 75:25	12,72	16,17	1,30
4	Eurocel 01, 3 µm	Hex-EtOH 90:10	16,95	19,55	1,17

Abb. 4

Chirale Trennung von Methylphenylsulfoxid auf einer Eurocel 02 Säule mit 5 µm Partikelgröße im Normalphasen-Modus (Hex-IPA 75:25)



Schlussfolgerung

Mit der zunehmenden Verfügbarkeit von stationären Phasen für die Trennung chiraler Proben gewinnt der Durchsatz für das Säulenscreening mehr und mehr an Bedeutung, um möglichst gut geeignete Kombinationen von Säule und mobiler Phase zu finden. Mit parallelen HPLC-Systemen kann dieser Prozess stark beschleunigt werden. Entsprechend ergeben sich in kürzerer Zeit mehr Möglichkeiten für die Variation von Parametern und Lösungsmitteln. Mit der Software „Chiral Column Screening Wizard“ ist es möglich, bis zu 80 Chromatogramme aus 10 Sepmatix-Läufen in wenigen Minuten zu verarbeiten. Das racemische Gemisch von Methylphenylsulfoxid kann mit den Säulen Eurocel 01 und Eurocel 02 im Normalphasenmodus mit unterschiedlicher Selektivität getrennt werden. In diesem Fall kann sowohl die benzoat-modifizierte chirale stationäre Phase wie die 3,5-dimethylphenylcarbammat-modifizierte Cellulosephase eingesetzt werden, um die Enantioselektivität der Sulfoxidation von Methylphenylsulfoxid zu kontrollieren.

Literatur

- [1] M.P.J. van Deurzen, I.J. Remkes, F. van Rantwijk, R.A.Sheldon; J. of Molecular Catalysis A: Chemical 117 (1997) 329-337
- [2] S. Colonna, N. Gaggero, L. Casella, G. Carrera, P. Pasta; Tetrahedron: Asymmetry Vol.3, No. 1 pp. 95-106 (1992)

Physikalische Eigenschaften der empfohlenen Säulen

Die chiralen KNAUER Eurocel Säulen wurden mit dem Ziel entwickelt, für die Mehrzahl chiraler Applikationen einsetzbar zu sein. Sie basieren auf einem qualitativ hochwertigen sphärischen Silika-Träger höchster Reinheit, der mit derivatisierter Cellulose beschichtet ist. Die erhältlichen Modifikationen zeigen eine hohe Enantioselektivität. Alle Eurocel CSP zeichnen sich durch ihre hohe Lösungsmittelflexibilität (RP, NP und polar organisch) und eine hohe Beladbarkeit aus.



Stationäre Phase	Eurocel 01	Eurocel 02	Eurocel 03	Eurocel 04
USP Code	L40			
Porengröße	<- 1000 Å ->			
Erhältl. Partikelgrößen	<- 3 µm, 5 µm, 10 µm, 20 µm ->			
Form	<- sphärisch ->			
Abmessungen	<- 250 x 4,6 mm ->			
Bestellnummern	25EM370ECG	25EM390ECJ	25EM400ECJ	25EM480ECJ ...

Systemempfehlungen



Das System für das sequenzielle Screening bestand aus folgenden Modulen:

Beschreibung	Bestellnummer
Smartline Pump 1000, mit 10 ml Pumpenkopf	A50303
Smartline Autosampler 3950	A5005-1
Smartline Oven 4050	A5300
Smartline Manager 5000 mit Degasser und NDG	A5313
Smartline Detector 2800 PDA	A5250
Smartline Solvent Selection Valve	A1490
Smartline Säulenschaltventil (2x)	A1488
ChromGate Software	A1493
ChromGate PDA Lizenz	A1460



Das System für das parallele Screening war wie folgt aufgebaut:

Beschreibung	Bestellnummer
Smartline 1000 Pump, mit 10 ml Pumpenkopf	A50303
Solvent Selection Rack- 6 Lösungsmittel, Sepiatec	auf Anfrage
Sepmatix 8x FlowControl, Sepiatec	auf Anfrage
Sepmatix 8x Autosampler, Sepiatec	auf Anfrage
Sepmatix 8x DADetector, Sepiatec	auf Anfrage

Autor

Kontakt

Silvia Marten, Leiterin der Abteilung Säulen, Phasen und Applikationen, KNAUER

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH
Hegauer Weg 38
14163 Berlin, Germany

Tel: +49 (0)30 / 809727-0
Fax: +49 (0)30 / 8015010
E-Mail: info@knauer.net
Internet: www.knauer.net