



MARTINA CATANI^A, OMAR H. ISMAIL^B, SIMONA FELLETTI^A,
FRANCESCO GASPARRINI^B, ALBERTO CAVAZZINI^A

^ADIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE E FARMACEUTICHE, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FERRARA

^BDIPARTIMENTO DI CHIMICA E TECNOLOGIE DEL FARMACO, UNIVERSITÀ DI ROMA "LA SAPIENZA"
CTNMTN@UNIFE.IT

NUOVE FASI STAZIONARIE CHIRALI PER SEPARAZIONI ULTRAFASST: ASPETTI CINETICI

In questo studio sono state confrontate le performance cinetiche di colonne impaccate con particelle totalmente porose e core-shell funzionalizzate con lo stesso selettore chirale, combinando misure sperimentali per la determinazione dei coefficienti di diffusione a modelli di diffusione in un mezzo poroso. I risultati hanno dimostrato che la colonna core-shell è la meno efficiente per la separazione del secondo enantiomero, a causa di un importante contributo all'allargamento di banda dato dalla diffusione eddy e dalla cinetica di adsorbimento-desorbimento.

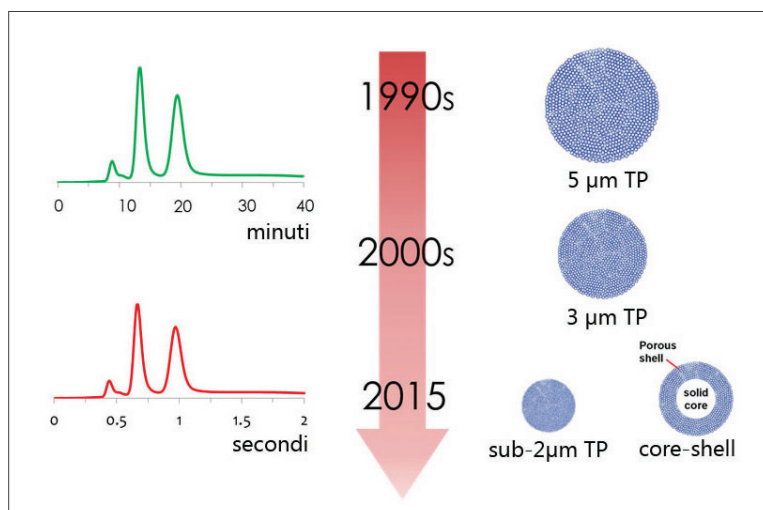


Fig. 1 - Evoluzione delle particelle utilizzate in cromatografia liquida chirale e tempi necessari per eluire una coppia di enantiomeri (TP = totalmente porose)

Durante l'ultimo decennio sono state sviluppate numerose fasi stazionarie per separazioni ultrafast, in particolare per cromatografia liquida (LC) a fase inversa. Queste fasi sono composte generalmente da particelle di silice totalmente porose di piccole dimensioni, fino a sub-2µm, in quanto l'efficienza di una separazione cromatografica è inversamente proporzionale al diametro delle particelle che compongono il letto impaccato. Tuttavia, l'utilizzo di colonne sub-2µm è

molto spesso limitato dalle alte contropressioni generate da letti impaccati con particelle di così piccole dimensioni, che richiedono quindi l'utilizzo di strumenti in grado di raggiungere 1200-1500 bar (questa tecnica prende il nome di Ultra High Performance Liquid Chromatography). Alternativamente alle particelle sub-2µm, vengono ampiamente utilizzate le cosiddette particelle *core-shell*, composte da un "core" solido circondato da uno "shell" poroso. È stato dimostrato che la presenza del core solido riduce tutti i contributi all'allargamento di banda in cromatografia liquida a fase inversa (diffusione longitudinale, resistenza al trasferimento di massa solido-liquido e diffusione eddy), favorendo quindi separazioni efficienti in tempi brevi.

Tuttavia, questo sviluppo ha interessato solo in parte il campo della cromatografia chirale, per la quale fino a pochi anni fa venivano impiegate solamente colonne impaccate con particelle totalmente porose da 3 o 5 µm e i tempi di analisi potevano essere addirittura al di sopra dei 30 minuti. L'introduzione di particelle *core-shell* o sub-2µm totalmente porose è stata limitata essenzialmente per due ragioni: da un lato, la difficoltà di adattamento di metodi di funzionalizzazione

L'articolo è basato sul contributo presentato in occasione delle "Giornate di Chimica Analitica" dedicate alla memoria del prof. Francesco Dondi - Ferrara, 10-11 luglio 2017.



pre-esistenti (pensati per particelle 3 o 5 μm) a particelle di piccole dimensioni e, dall'altro, la mancanza di una totale comprensione dei complessi fenomeni di trasferimento di massa in cromatografia chirale. Negli ultimi anni, però, grazie alla crescente richiesta da parte dell'industria farmaceutica di sviluppo di metodi di separazione chirali veloci ed efficienti, sono state introdotte le prime colonne impaccate con particelle core-shell o sub- $2\mu\text{m}$ totalmente porose funzionalizzate con selettori chirali. Utilizzando colonne di lunghezza 1 o 2 cm e alte velocità di flusso sono stati recentemente ottenuti straordinari risultati in termini di efficienza e separazioni ultrafast (con tempi di analisi al di sotto dei secondi), rappresentando una vera e propria rivoluzione nel campo della cromatografia chirale (Fig. 1) [1-4].

Tuttavia, l'utilizzo delle particelle core-shell in cromatografia chirale potrebbe non portare agli stessi vantaggi cinetici come nel caso delle separazioni achirali in cromatografia a fase inversa. In particolare, occorre tener conto che in cromatografia chirale uno dei principali fattori che contribuisce all'allargamento di banda è la cinetica di adsorbimento-desorbimento sulla fase stazionaria, che può essere lenta specialmente per il secondo enantiomero.

A questo scopo, in questo lavoro sono state confrontate le performance cinetiche di colonne aventi geometria simile ed impaccate con particelle totalmente porose (1,8 e 2,5 μm) e core-shell (2,6 μm) funzionalizzate con lo stesso selettore chirale (Whelk-O1) appartenente alla classe dei selettori di tipo Pirkle, per la separazione degli enantiomeri del *trans*-stilbene osido (TSO) in fase normale [1].

Le performance cinetiche sono state valutate mediante la costruzione delle curve di van Deemter. I vari contributi al trasferimento di massa sono stati calcolati indipendentemente mediante un approccio che prevede l'interpretazione di una serie di misure sperimentali di tipo stop-flow per il calcolo dei coefficienti di diffusione nella fase mobile e nel letto impaccato (la tecnica cromatografica utilizzata prende il nome di "peak parking") attraverso un modello di diffusione all'interno di un mezzo poroso.

I risultati ottenuti hanno mostrato che la colonna impaccata con particelle core-shell mostra un chiaro vantaggio in termini di diffusione longitudinale e

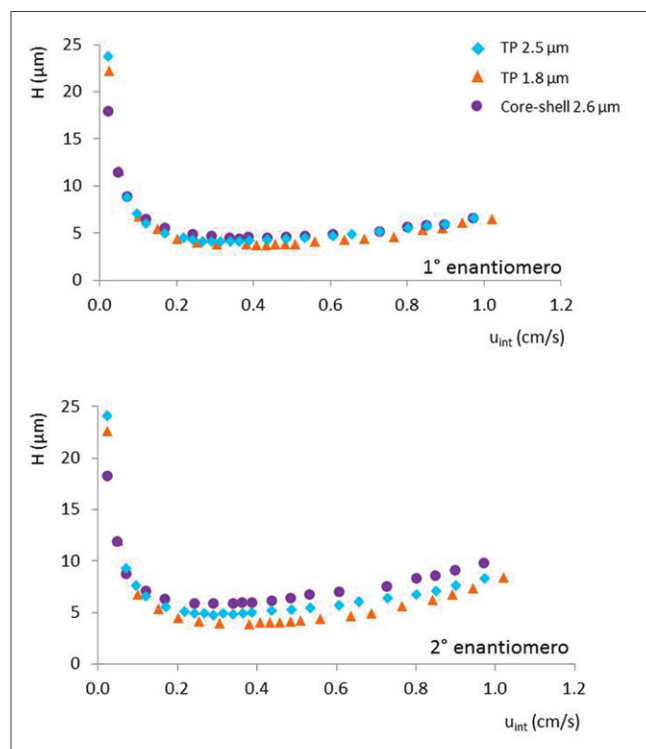


Fig. 2 - Curve di van Deemter per il primo e il secondo enantiomero sulle tre colonne utilizzate. L'efficienza è espressa come altezza del piatto teorico (H) mentre la velocità della fase mobile è espressa come velocità lineare interstiziale (u_{int}) riferita solamente alla porzione di volume esterna alle particelle

trasferimento di massa solido-liquido rispetto alle colonne totalmente porose. Tuttavia, come si può notare dalla Fig. 2, specialmente per il secondo enantiomero, la colonna core-shell risulta essere meno efficiente rispetto alle altre due.

Questo è dovuto essenzialmente ad una combinazione di due contributi importanti al trasferimento di massa: da un lato la diffusione eddy e dall'altro la cinetica di adsorbimento-desorbimento del secondo enantiomero (molto più lenta sulle core-shell che sulle totalmente porose). Il primo aspetto può essere legato ad alcune difficoltà sperimentali incontrate durante la fase di preparazione dello slurry e di impaccamento della colonna, in quanto il termine di diffusione eddy è legato alla "qualità" e all'omogeneità del letto impaccato. Ciò suggerirebbe che l'impaccamento di particelle core-shell polari (come sono in questo caso le particelle funzionalizzate con il selettore Whelk-O1) può essere molto più difficile rispetto a quello di particelle core-shell apolari (come le C18

comunemente ed ampiamente utilizzate per cromatografia a fase inversa). Per questo motivo sarebbero necessari ulteriori studi riguardo la rugosità della superficie delle particelle.

Il secondo aspetto, invece, riguardante la cinetica di adsorbimento-desorbimento del secondo enantiomero, può essere correlabile con la maggior "quantità" di selettore chirale (in termini di $\mu\text{mol}/\text{m}^2$) presente sulle particelle core-shell, a parità di condizioni sperimentali di funzionalizzazione. Ciò suggerirebbe, da un lato, una maggiore accessibilità dei layers esterni del guscio poroso delle particelle core-shell e, dall'altro, una possibile dipendenza fra cinetica di adsorbimento-desorbimento e selettore chirale presente sulla fase stazionaria. Per generalizzare questo concetto sono, comunque, necessari studi più approfonditi su fasi costituite dallo stesso tipo di silice ma con diversa quantità di selettore chirale. Questo tipo di informazioni è necessario non solo per la progettazione di fasi chirali sempre più efficienti ma anche per stabilire quali sono i fattori che possono porre un possibile limite cinetico per le separazioni ultrafast.

BIBLIOGRAFIA

- [1] O.H. Ismail *et al.*, *J. Chromatogr. A*, 2016, **1466**, 96.
- [2] O.H. Ismail *et al.*, *J. Chromatogr. A*, 2017, **1520**, 91.
- [3] M. Catani *et al.*, *Analyst*, 2017, **142**, 555.
- [4] D.C. Patel *et al.*, *Anal. Chem.*, 2016, **88**, 8821.

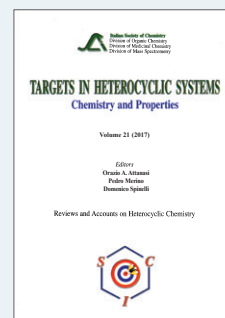
New Chiral Stationary Phases for Ultrafast Separations: Kinetic Aspects

Kinetic performance of columns packed with both core-shell and sub- $2\mu\text{m}$ fully porous particles functionalized with the same chiral selectors has been evaluated by means of an approach that combines experimental measurements for the determination of diffusion coefficients to theoretical models of diffusion in a porous medium. The results of this work have demonstrated that the core-shell column is the less efficient for the separation of the second eluted enantiomer due to a combined effect of both eddy diffusion and adsorption-desorption kinetics.

LIBRI E RIVISTE SCI

Targets in Heterocyclic Systems Vol. 21

È disponibile il 21° volume della serie "Targets in Heterocyclic Systems", a cura di Orazio A. Attanasi, Pedro Merino e Domenico Spinelli
http://www.soc.chim.it/it/libri_collane/th/s/vol_21_2017



Sono disponibili anche i volumi 1-20 della serie.

I seguenti volumi sono a disposizione dei Soci gratuitamente, è richiesto soltanto un contributo spese di € 10:

- G. Scorrano "La Storia della SCI", Edises, Napoli, 2009 (pp. 195)
- G. Scorrano "Chimica un racconto dai manifesti", Canova Edizioni, Treviso, 2009 (pp. 180)
- AA.VV. CnS "La Storia della Chimica" numero speciale, Edizioni SCI, Roma 2007 (pp. 151)
- AA.VV. "Innovazione chimica per l'applicazione del REACH" Edizioni SCI, Milano, 2009 (pp. 64)

Oltre "La Chimica e l'Industria", organo ufficiale della Società Chimica Italiana, e "CnS - La Chimica nella Scuola", organo ufficiale della Divisione di Didattica della SCI (www.soc.chim.it/riviste/cns/catalogo), rilevante è la pubblicazione, congiuntamente ad altre Società Chimiche Europee, di riviste scientifiche di alto livello internazionale:

- ChemPubSoc Europe Journal
- Chemistry A European Journal
- EURJOC
- EURJIC
- ChemBioChem
- ChemMedChem
- ChemSusChem
- Chemistry Open

- ChemPubSoc Europe Sister Journals
- Chemistry An Asian Journal
- Asian Journal of Organic Chemistry
- Angewandte Chemie
- Analytical & Bioanalytical Chemistry
- PCCP, Physical Chemistry Chemical Physics

Per informazioni e ordini telefonare in sede, 06 8549691/8553968, o inviare un messaggio a manuela.mostacci@soc.chim.it