

10 Bestimmung der Lipophilie

10.1 Reagentien

Referenzsubstanzen/interne Standards (p.a. Qualität):

Thioharnstoff

Anisol

Toluol

Naphthalin

Anthracen

Lösungsmittel:

Methanol (HPLC-Qualität)

HPLC-Anlage:

siehe Biochemisch-experimenteller Teil (8.2)

Fließmittel (FM):

FM I:

Methanol/Wasser/Essigsäure (77:23:0.1, (V/V)),
mit 3N NH₃ auf pH 5.5 eingestellt

FM II:

Methanol/Wasser/Essigsäure (85:15:0.1, (V/V)),
mit 3N NH₃ auf pH 5.5 eingestellt

10.2 Durchführung

Sowohl die Referenzsubstanzen als auch die Testsubstanzen werden in Methanol zu einer Konzentration von ca. 1 mM gelöst und zu gleichen Volumenteilen gemischt. Jeweils 20 μ L dieser Mischung werden in die RP-HPLC-Säule bei einer Flussrate von 1 mL/min injiziert. Die UV-Detektion erfolgt bei einer Wellenlänge von 254 nm. Für sehr lipophile Verbindungen wird ein Fließmittel mit höherer Elutionskraft (FM II) verwendet.

10.3 Auswertung

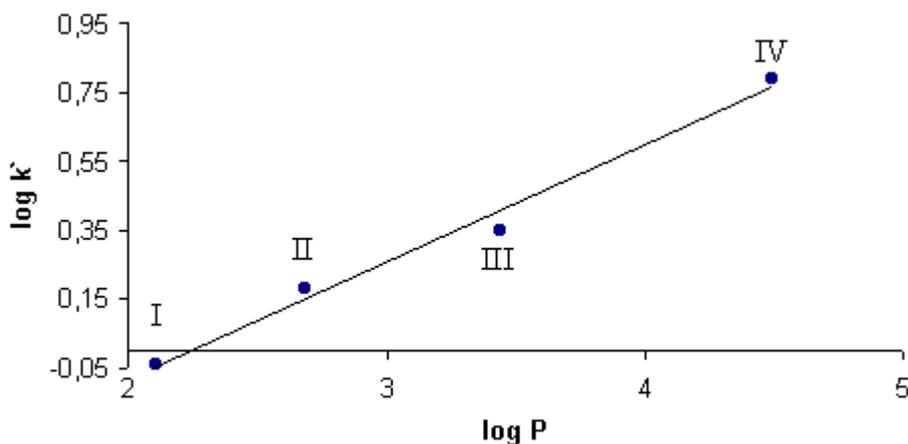


Abb. 10.1: Kalibrierkurve der internen Standards Anisol (I: 2.11), Toluol (II: 2.69), Naphthalin (III: 3.44) und Anthracen (IV: 4.49)

Nach der Berechnung der $\log k'$ -Werte wurde eine Kalibriergerade rechnerisch durch lineare Regression erstellt und der $\log P$ -Wert der Testsubstanzen bestimmt. Für die Bestimmung des Kapazitätsfaktors k' wurde die Retentionszeit des Thioharnstoffs als Totzeit (t_m) zugrunde gelegt. Dazu wurden die ermittelten $\log k'$ -Werte der internen

Standards Anisol, Toluol, Naphthalin und Anthracen den literaturbekannten über Ausschüttelung bestimmten log P-Werten (2.11, 2.69, 3.44 und 4.49) gegenübergestellt. Der Korrelationskoeffizient war in allen Fällen > 0.99 . Der für jede Testsubstanz angegebene log P-Wert ist der Mittelwert aus mehreren Messungen ($n = 3$), wobei die Standardabweichung ≤ 0.03 betrug.