Präparative Chromatographie

Dr. Marco Kleine
BÜCHI Labortechnik GmbH, www.buechigmbh.de

Die präparative Chromatographie ist eine der am meisten verwendeten Methoden zur Reinigung aller erdenklichen Substanzen, die während eines Syntheseprozesses entstehen. Da in vielen Fällen die Umkristallisation nicht den gewünschten Erfolg bringt, ist der Anwender oftmals gezwungen, auf die Chromatographie zurückzugreifen. Der Einsatzbereich der präparativen Chromatographie erstreckt sich dabei von der Trennung von wenigen Miligramm wertvoller End- oder Zwischenprodukte bis hin zu Gramm- oder Kilogrammmengen im Technikumsmaßstab oder Produktionsbetrieb.

Von den ersten Trennversuchen mittels Dünnschichtchromatographie bis zur Trennung im Grammmaßstab sind immer wieder, teils kleinere oder auch größere, Upscaling-Schritte notwendig. Die Erfahrung im Laboralltag zeigt, dass es für eine erfolgreiche Vergrößerung der zu trennenden Substanzmenge immer hilfreich ist, so viele Parameter wie möglich beim jeweiligen Schritt konstant zu halten. Das gilt insbesondere für die chromatographischen Parameter, wie die Art des Kieselgels, das Lösungsmittel, aber auch Kenngrößen wie Beladung und Flussrate. Nicht zu unterschätzen ist, gerade für die Handhabung und komfortable Arbeitsweise, der Einfluss des Chromatographiegerätes an sich. Ein modernes Laborgerät sollte neben dem Bedienkomfort vor allem auch die Eigenschaft besitzen, möglichst universell einsetzbar zu sein. Konkret heißt dieses für die präparative Chromatographie, dass möglichst alle Arten von Proben in einem großen Bereich der Substanzmengen mit demselben System getrennt werden können. Applikationen und Trennprobleme können sich in einem Labor unter Umständen täglich ändern, so dass sich die Anwender eines solchen Systems schnell auf das neue Problem einstellen müssen. Ein wichtiger Gesichtspunkt, der immer mehr in den Fokus rückt, ist die Wirtschaftlichkeit eines Laborgerätes.

Die maximale Flexibilität der Sepacorelinie der Firma Büchi kann diese beschriebenen Bedürfnisse optimal erfüllen. Ein System für alle Arten der Anwendung: Es können Aufreinigungen von wenigen Milligramm bis zu 100g Probenmenge durchgeführt werden. Das modulare System kann ganz nach den Bedürfnissen der Anwender zusammengestellt werden. Von einem ganz einfachen Flashsystem für die schnelle Aufreinigung einfacher Substanzgemische bis hin zu einem halbautomatischen System mit bis zu vier Lösungsmittelpumpen, unterschiedlichsten Detektionsmöglichkeiten, Säulenmodulen für das sequentielle Abarbeiten von bis zu 5 Säulen und 2 Fraktionssammlern.

Das Herz eines jeden chromatographischen Systems ist die Lösungsmittelpumpe. Es stehen bei der Sepacorelinie zwei unterschiedliche Pumpenmodule zur Auswahl. Es besteht die Wahl des Arbeitens bis zu einem Druck von 10 oder 50bar. Für das Auftrennen kleiner Subtanzmengen mittels Kunststoffkartuschen wird der Arbeitsdruck aller Erfahrung nach nicht höher als 10bar sein.

Die allermeisten Hersteller von Einwegkartuschen geben einen deutlich niedrigeren maximalen Arbeitsdruck an. Sollen jedoch auch große Substanzmengen, zum Beispiel mithilfe von Glas- oder Edelstahlsäulen, getrennt werden, kommt es oft zur Ausbildung höherer Gegendrücke, um den geforderten Durchfluss des Lösungsmittels zu erreichen. Ein weiterer Grund für einen höheren Gegendruck kann das in der präparativen Chromatographie immer beliebter werdende Umkehrphasenkieselgel sein. Mit beiden Versionen der Pumpen (10 oder 50bar) können Flussraten von bis zu 250ml/min pro Modul erreicht werden, so dass sich eine maximale Durchflussmenge von 1000ml/min ergibt.

Die Trennung selber findet, wie oben bereits beschrieben, auf Säulen oder Kartuschen statt. Auch hier wird die maximale Flexibilität des Systems deutlich. Neben der breiten Palette an Büchi-Glassäulen und –kartuschen können nahezu alle handelsüblichen Säulen bzw. Kartuschen eingesetzt werden. Dieses ist ein wichtiger Punkt bei dem oben beschriebenen Prozess des Upscalings.

Um den unterschiedlichsten Anforderungen an den Sammelprozess gerecht zu werden, ist das Design des Fraktionssammlers so gestaltet, dass von Kleinstmengen bis zu Großvolumina gesammelt werden kann. Neben den drei Büchi-Standardracks können Racks vollkommen frei definiert werden. Als Detektionsmöglichkeiten stehen unterschiedliche UV/ Vis- und Brechungsindex-Detektoren zur Auswahl.

Abbildung 1: Basis-Flash-System

Abbildung 2: Automatisches Gradienten System

Die Steuerung des Systems kann mithilfe eines Computers erfolgen oder die Sepacoreanlage kann als Stand-alone-Einheit betrieben werden. Gerade letzteres bietet den Vorteil, dass das Gerät auch da eingesetzt werden kann, wo aufgrund des Umfeldes kein PC vorhanden sein kann oder darf. Dieses kann bei einem festen Einbau in einen Abzug oder Einhausung oder bei

besonders aggressiver Laborumgebung der Fall sein. Die Auswertung der Chromatogramme kann bei dieser Variante klassisch über einen Schreiber oder über eine reine Auswertungssoftware erfolgen.

Für den Anwender komfortabler ist sicherlich die softwaregestützte Bedienung. SepacoreControl ist in der Lage, den Bediener bei der Erstellung von Methoden sowie der Auswahl der besten Parameter für die Trennung zu unterstützen. So kann nahezu ausgeschlossen werden, dass falsche Parameter der Grund für Probleme mit dem Trennsystem sind. Es handelt sich hierbei nicht nur um eine bedienerfreundliche Software, die das Arbeiten im Laboralltag erleichtert, vielmehr ist es eine Erweiterung des kompletten Systems: Es können PC-gesteuert Trennungen auf bis zu 5 Säulen automatisch nacheinander durchgeführt werden. Einmal gestartet und programmiert, erfordert das System kein weiteres Eingreifen durch den Benutzer. Das System kann um einen weiteren Fraktionssammler erweitert werden, so dass das Sammelvolumen auf bis zu 480 Gläser oder 24 Liter gesteigert werden kann.

Durch die beschriebene Flexibilität ist das Anwendungsspektrum einer solchen Chromatographie-anlage nahezu unbegrenzt. Überall dort, wo Produkte aufgereinigt werden müssen und andere Methoden nicht zum Einsatz kommen können, kann die Sepacorelinie den verschiedensten Anwendern zur Verfügung stehen. Neben klassischen Einsatzbereichen, wie der organischen Synthese sind auch Trennungen von extrahierten Substanzgemischen häufige Einsatzgebiete. Dabei kann die Extraktion selbstverständlich klassisch oder unter Hochdruck erfolgen. Gerade auch im letztgenannten Bereich bietet Büchi jetzt, mit dem auf der Achema erstmalig präsentierten SpeedExtractor, das optimale Instrument zur parallelen Extraktion unter Druck an. Bis zu 6 Proben können in kurzer Zeit mit dem SpeedExtractor höchst effizient gleichzeitig extrahiert werden. Typische Extraktionszeiten liegen bei 30min. Damit ist diese Technik besonders für Labors mit hohem Probendurchsatz geeignet.

Als ein aktuelles Beispiel für den Einsatz der Sepacorelinie unter extrem schwierigen Bedingungen seien die Arbeiten von DIANA et. al. genannt. Eine Vielzahl hetrozyklischer Systeme ist dafür bekannt, dass sie eine ausgeprägte Antitumoraktivität aufweisen. Das zur Zeit bekannteste und häufigst eingesetzte ist sicherlich Temodal® (Temozolomid). Es wird gegen die unterschied-lichsten Arten von bösartigen Tumoren eingesetzt, unter anderem bei Hirntumoren. Ziel der Arbeiten war und ist es, neuartige Triazen-Verbindungen herzustellen und diese auf ihre Antitumoraktivtät zu untersuchen. Hierfür war selbstverständlich eine Darstellung der jeweiligen Substanz mit möglichst hoher Reinheit erforderlich. Da diese Aufreinigung in den verschiedenen Synthesestufen mit unterschiedlichen Substanzmengen durchgeführt werden musste, kam die Flexibilität der Sepacorelinie zu tragen: Die Trennungen fanden sowohl auf Einmalkartuschen als auch bei größeren Substanzmengen mittels Glassäulen statt (Issue of honor of Prof. N. Vivona, ARKIVOC 2009 (viii) 177-186).