

Tagungsbericht NOVIA-HPLC-Tage 2013

NOVIA Chromatographie- und Messverfahren GmbH

Das Anwenderforum „HPLC-Tage“ fand am 25.11.2013 und 26.11.2013 statt.

Die Geschäftsführerin Frau Dr. A. Merz begrüßte die Teilnehmer, Referenten und Aussteller und stimmte sie auf das Jetzt und Hier und die Zukunft ein: „Wir feiern das 25-jährige Jubiläum der NOVIA – gegründet 1989 von Herrn Dr. S. Kromidas und seit 2001 ein Tochterunternehmen der Provadis Partner für Bildung und Beratung GmbH am Industriepark Höchst in Frankfurt am Main“.

Am Montag, den 25.11.2013, stand das Thema „Säulen“ auf dem Programm.

Den Einstieg in die Vortragsreihe und den Workshops bereitete Herr Dr. S. Kromidas mit einem Überblick über neuere stationäre Phasen in der RP-HPLC. Zurzeit erleben wir auf dem Säulenmarkt zweifelsohne einen „Hype“ der Fused-Core-Materialien. Dieses Säulenmaterial weißt ganz klar Vorteile z.B. in hohen Trennleistungen auf – die deutlichen Vorteile bei der Trennleistung erkennt man aber erst auf einer Anlage mit kleinem Systemtotvolumen. Ein Umstieg auf die U(H)PLC ist also empfehlenswert. Ähnlich verhalten sich die neuen sub-2- μ m-Materialien. Auch hier wieder können nur U(H)PLC-Anlagen zum Einsatz kommen. Geeignete Alternativen sind hier monolithische Säulen, die wiederum aufgrund ihrer Struktur geringe Säulenrückdrücke erzeugen und somit mit herkömmlichen „klassischen“ HPLC-Anlagen betrieben werden können. Letztendlich entscheidet der Anwender, welches Säulenmaterial für seine Aufgabenstellung geeignet ist.

Im direkten Anschluss stellte Frau P. Lewits (Merck KGaA) dar, dass mit Hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) polare Verbindungen erfolgreich getrennt werden können. Die RP-Chromatographie steht an dieser Stelle immer noch mit Trennproblemen vor unlösbaren Aufgaben. HILIC ist im Prinzip ganz einfach: man muss die sog. „RP-Denke“ im Kopf umdrehen (Wasser ist das stärkste Elutionsmittel).

Anschließend hatten die Teilnehmer die Möglichkeit zwischen zwei Workshops zu wählen.

Dr. M. Juza (Basilea Pharmaceutica Ltd.) berichtete über Neuigkeiten, Vor- und Nachteile der chiralen U(H)PLC. Das Trennproblem ist in der chiralen Chromatographie einfacher: nur zwei Peaks bei einer Enantiomerentrennung! Die klassische HPLC kann solche Verbindungen nicht trennen. Dazu benötigt es enantioselektive stationäre Phasen. Wenn auch unter gewissen Anstrengungen sind schnelle Trennungen routine-tauglich. Die Vorteile bei der Einführung einer chiralen U(H)PLC überwiegen gegenüber den wenigen Nachteilen. Jetzt muss jeder für sich entscheiden, ob er einen neuen Schritt geht.

Im parallel laufenden Workshop diskutierte Herr D. Hartmann zum Thema „Säulenmaterialien in der Biochromatographie. Welche Alternativen gibt es zu Protein A Trägern im Capture Schritt?“ Die rege Teilnahme an diesem Workshop spiegelt die steigende Bedeutung der Biochromatographie wieder und das Interesse der Anwender sich auch auf dem Gebiet der effizienten Trennung von Proteinen zu informieren.

Im weiteren Verlauf des Forums stellte Herr R. Traut (Bachem AG) dem Plenum vor, wie neue U(H)PLC-Technologien im Bereich der Peptide die Produktqualität verbessern und die Profitabilität erhöhen können. Grob gesagt ersetzt eine U(H)PLC ca. drei HPLC-Anlagen. Die U(H)PLC-Anlagen haben einen Einfluss auf die „Geschwindigkeit“ (Verkürzung der Laufzeit und somit Reduzierung der Wartezeiten in der IPC) und die „Qualität“ (Chromatographiemethoden mit mehr Spezifität, schnellere Methodenentwicklung). Mehr Wissen über Verunreinigungen und Abbauprodukte führt zu: höherer Produktqualität und sichereren Peptiden. Das Plenum nahm die Behauptung, dass mit U(H)PLC Technologie es möglich ist, Kosten zu reduzieren, Analysendauer zu verringern, Auflösung zu verbessern und Peptide mit besserer Qualität zu produzieren, auf und diskutierte lebhaft.

Nach einem ereignisreichen und sehr informativen Vormittag konnten sich die Teilnehmer über die neuesten Entwicklungen und Geräte der ausstellenden Unternehmen informieren. Die Aussteller präsentierten die

neuesten Produkte, die auf dem Markt zu erwerben sind.

Im Blickpunkt des Nachmittags stand die Podiumsdiskussion zum Thema: „Ein kritischer Vergleich von fused-core, sub-2- μ m und monolithischen HPLC-Säulen“. Herr Dr. J. Maier-Rosenkranz (GRACE Materials Technologies) leitete diese Diskussionsrunde mit einem Impulsvortrag ein. Zur Diskussion stellten sich: Herr Dr. D. Hansen (Phenomenex LTD.), Herr Dr. D. Kurth (Waters GmbH), Herr H. Schulz (YMC Europe GmbH), Dr. M. Wälz (ThermoFisher Scientific) und Herr Dr. F. Michel (SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH). Die Teilnehmer hatten großes Interesse hieran. Was ist das Fazit: alle namenhaften Hersteller von Säulen haben fast alle Säulentypen im Programm. Letztendlich muss der Kunde entscheiden, welches Material er einsetzen will bzw. einsetzen kann – die eierlegende Wollmilchsaue gibt es nicht.

Den Abschlussvortrag des ersten Tages hielt Herr Dr. B. Degler (Waters) zum Thema „Moderne Säulenmaterialien – Beispiele und Anwendungen in der Praxis“. Durch die Kombination der überkritischen Flüssigchromatographie (SFC) mit einem UPLC-System konnte die anspruchsvolle Verbindung TRITON™ X-100 sehr gut getrennt werden. Es existieren bereits Applikationen mit mehr oder weniger guten Trennergebnissen. Aber durch den Einsatz von SFC/UPLC und einer sub-2- μ m Säule ist es gelungen, 20 Oligomere in weniger als zwei Minuten an der Basislinie zu trennen.

Den zweiten Tag der NOVIA HPLC-Tage eröffnete Frau Dr. M. Tawab (Zentrallaboratorium Deutscher Apotheker) mit einem Vortrag zu „Störsignale in der HPLC: Ursachen und Gegenstrategien“. Störsignale können verschiedene Ursachen und sie müssen vermieden werden. Störsignale können aus Lösungsmitteln, Reagenzien, Wasser oder auch Eluentengefäßen entstehen. Die Erzeugung von Störsignalen aus Memory-Peaks ist nicht zu unterschätzen. Je empfindlicher die Detektionsmöglichkeiten werden, umso sorgfältiger muss meine Arbeitsweise sein. Überall können die Ursachen für Störsignale

lauern und wir sehen wegen der „Betriebsblindheit“ nicht.

Als zweiter Redner des Tages gab Dr. S. Kromidas Tipps und Beispiele zur Gradientenoptimierung in der RP-HPLC. An drei Stellparametern muss Hand angelegt werden: Nachweisgrenze erniedrigen, Peakkapazität erhöhen, Auflösung verbessern (bei möglichst kurzen Retentionszeiten).

Im anschließenden Workshop zum Thema „Fallstricke beim Methodentransfer von Gradientenmethoden“ zeigte Dr. S. Kromidas auf, dass die Gradientenspezifische Probleme beim Methodentransfer u.a. Unterschiede im Verweilvolumen sind. Eben dieser Unterschied kann dramatische Folgen haben: Änderung der Selektivität, der Auflösung, der Peakform, der Elutionsreihenfolge – de facto kann sich alles ändern.

„Was der SST über die Geräteperformance verrät“ berichteten uns Herr K.-H. Brückner und Herr T. Kopp (Zentrallaboratorium Deutscher Apotheker). Der Systemeignungstest stellt eine „continuos PQ“ dar. Die klassische OQ/PQ stellen nur eine Momentaufnahme dar und wird in größeren zeitlichen Abständen durchgeführt. Beim SST geht es um eine konkrete Methode und sollte mit einer realen Probe gemacht werden. So bekomme ich regelmäßig eine Aussage über die Stabilität des Systems, es deckt Gerätedefekte/ Ungenauigkeiten auf, die Fehlerquelle lässt sich identifizieren und man beugt Nachuntersuchungen vor.

In zwei weiteren parallelen Workshops ging es bei Herrn M. Hillebrand (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) um die „Zeitgemäße Integration 2.0“ und bei Herrn Dr. H.-J. Kuss (Ludwig-Maximilians-Universität München) um „HPLC-Gradientenoptimierung mit Excel“. Der Workshop von Herrn Dr. Kuss baute auf dem zuvor gehaltenen Vortrag von Dr. Kromidas auf – zwischen den beiden Experten entwickelte sich eine hoch spannende Fachdiskussion!

Herr M. Schaffrath (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) berichtete über den Einsatz von „Chiraler Chromatographie in der pharmazeutischen Industrie“. Die chirale Methodenentwicklung erfordert insbesondere für präparative Trennungen ein umfangreiches Säulen- und Lösemittel-Screening. Die Optimierung erfordert oft Geduld und das Testen von unkonventionellen Methoden. Mittels der SFC können insbesondere bei größeren präparativen Trennungen erhebliche Kosten eingespart werden. Der technische Aufwand für die Infrastruktur sollte allerdings mit berücksichtigt werden.

Herr O. Genz (Separation Technologies) hielt den letzten Vortrag der diesjährigen Veranstaltung. In seinem Vortrag zu „Analytische und präparative Chromatographiemethoden Unterschiede und Gemeinsamkeiten“ zeigte er die Unterschiede beider Disziplinen auf. Im Regelfall erfahren wir in der Ausbildung oder im Studium eine analytische Ausbildung. Analytische Chromatographie ist für uns

„normal“. Wenn wir aber die Welt der Labore verlassen müssen wir in anderen Dimensionen denken, es gilt: „Think Big“. Produktion und Labor können sich unterscheiden – es bedarf im Labor nicht zwingend der analytischen Methoden auf dem „gleichen“ Material und mit der gleichen Technik wie in der Produktion.

Alles in Allem erlebten die Teilnehmer zwei fachlich interessante und abwechslungsreiche Tage, an welchen der Erfahrungsaustausch wie jedes Jahr eine wichtige Rolle innehatte, um auf dem aktuellen Stand der Entwicklungen zu sein.