

## Chromatographie mit überkritischen Lösungsmitteln

Die Charakterisierung von Wirkstoffen sowie die Isolierung von Verunreinigungen zur anschließenden Identifizierung erfolgt meistens durch chromatographische Methoden. Für ausgewählte Fragestellungen in diesem Bereich hat sich die überkritische Flüssigkeitschromatographie (SFC) als ein effektives Werkzeug erwiesen.

Die AQura GmbH erweitert mit einem analytischen und einem semi-präparativen SFC-System der Firma Jasco (s. Abb. 1) ihre Möglichkeiten zur Trennung und schonenden Isolierung von Fraktionen unter Nutzung von überkritischem Kohlendioxid als Lösungsmittel. Die Vorteile der SFC liegen in schnellen Normalphasentrennungen relativ unpolarer Substanzen sowie im Verzicht auf teure Lösungsmittel vor allem in der präparativen Chromatographie.

### Analytical Supercritical Fluid Chromatography



Abbildung 1: Modular aufgebautes SFC-System (Foto: Jasco)

### Analysentechnik im Detail

Bei der überkritischen Flüssigkeitschromatographie (SFC, engl. supercritical fluid chromatography) werden mobile Phasen verwendet, die sich im überkritischen Zustand befinden. In diesem Zustand (oberhalb der stoffspezifischen kritischen Werte von Temperatur und Druck) liegen viele Stoffeigenschaften zwischen denen von Gasen und Flüssigkeiten (relevant hier sind insbesondere Diffusionskoeffizient, Viskosität und Dichte).

Das am häufigsten verwendete überkritische Fluid Kohlendioxid ist inert und ungiftig und hat im überkritischen Zustand eine gute Probenlösefähigkeit. Aufgrund seiner geringen Polarität werden oftmals polare organische Lösemittel als Modifier zugesetzt.

Während in der HPLC inzwischen überwiegend Trennsäulen mit RP-Phasen Verwendung finden, erfolgt die Trennung in der SFC in den meisten Fällen auf Normalphasen. Aufgrund der anderen Selektivitäten bei Trennsäule und mobiler Phase (Kohlendioxid) ergeben sich im Vergleich zur HPLC ganz neue Möglichkeiten der Stofftrennung. Chirale Phasen zur Trennung von Enantiomeren sind zumeist Normalphasen und vorzüglich in der SFC einsetzbar (s. Beispiel auf S. 3). Bei der AQura GmbH verwenden wir ein SFC-System, das die Analyten nach Trennung über eine (chirale) gepackte Säule mittels UV-Detektion anzeigt. Dabei haben sich Ofentemperaturen von 30 °C bis 70 °C für die Trennung als geeignet erwiesen.

## Vorteile der SFC

Die SFC bietet die Kombination von Vorteilen der Normalphasen-HPLC (hinsichtlich Beladbarkeit und Ausbeute) und der Gaschromatographie (hinsichtlich Geschwindigkeit und Trenneffizienz). Besonders geeignet ist die SFC für unpolare und mittelpolare Analyte, d. h. im Allgemeinen für hexanlösliche Substanzen (s. Abb. 2).

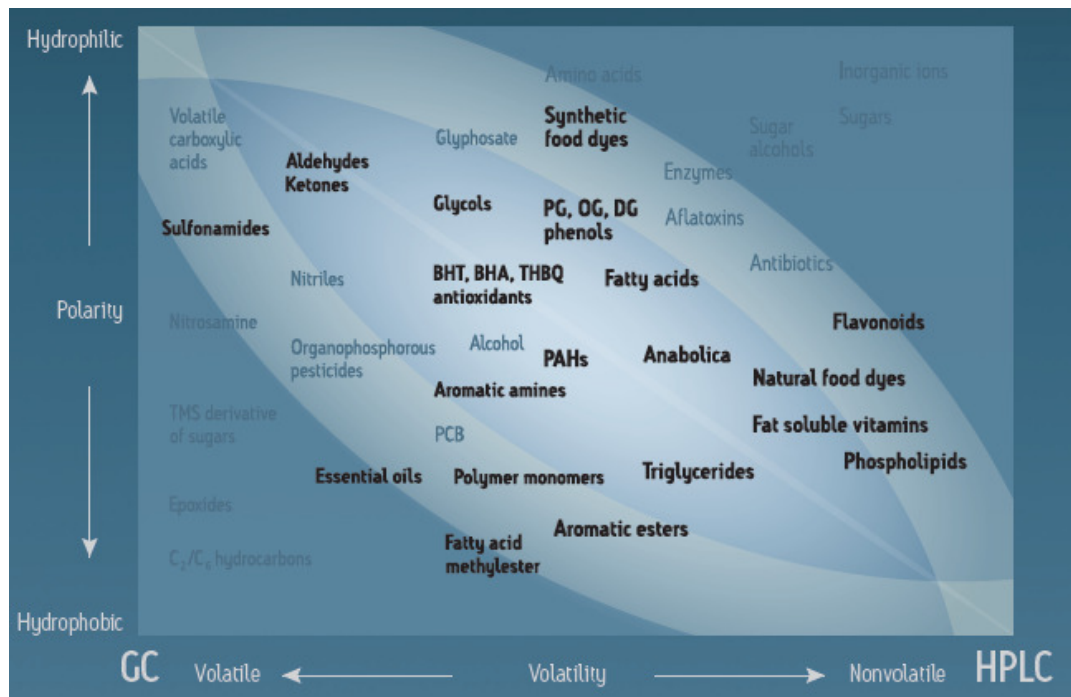


Abbildung 2: Darstellung der für die SFC geeigneten unpolaren und mittelpolaren Substanzen (Grafik: Waters)

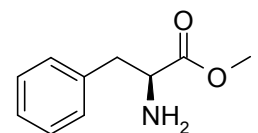
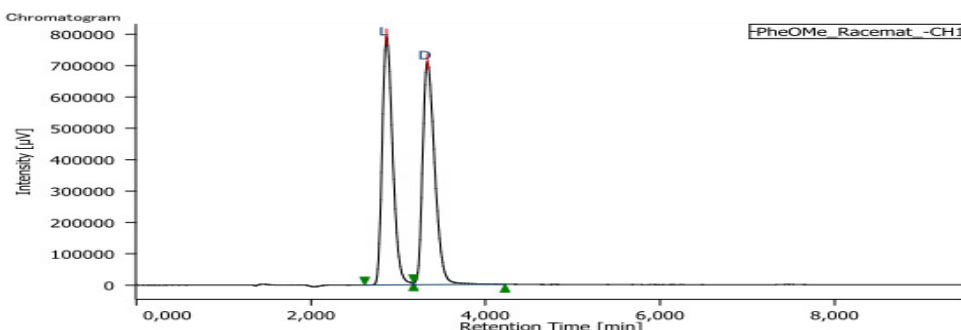
Durch die Verwendung gepackter Säulen aus der HPLC mit hoher Beladbarkeit sind auch präparative Trennungen möglich. Danach geht die mobile Phase in den gasförmigen Zustand über und es ist kein zusätzlicher Anreicherungsschritt für die Isolierung notwendig. Dies führt zu einer erheblichen Einsparung von Lösungsmitteln im Vergleich zur HPLC.

Andererseits erfolgt der Stoffaustausch zwischen mobiler und stationärer Phase ähnlich schnell wie in der GC und führt zu schärferen Peaks und höherer Analysengeschwindigkeit im Vergleich zur HPLC. Wie bei der GC ist der Druck in der Säule kaum von der Säulenlänge abhängig. Daher können – anders als in der HPLC – mehrere Säulen hintereinander geschaltet werden, um die Trennleistung zu erhöhen.

### Beispiel: Enantiomerentrennung mittels SFC

Die Enantiomerentrennung von Phenylalaninmethylester auf einer chiralen Trennphase mittels SFC zeigt das Potenzial dieser Analysetechnik: Gegenüber der HPLC wurde die Auflösung erheblich verbessert und die Laufzeit von 12 min auf weniger als 4 min verringert. Die Nachweisempfindlichkeit ist vergleichbar mit der der HPLC. Die Chromatogramme zeigen dies eindrucksvoll (s. Abb. 3).

Racemat:



Verdünnung auf 0,05 %:

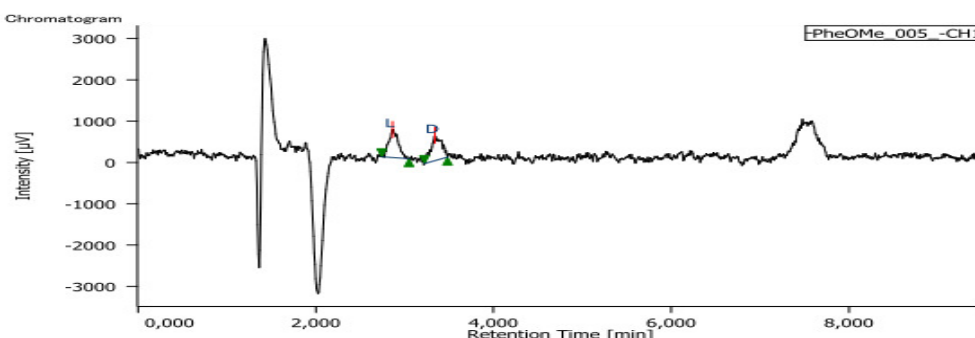


Abbildung 3: Enantiomerentrennung eines Racemats von Phenylalaninmethylester auf dem SFC-System der Firma Jasco. Die Trennung der reinen Substanz erfolgt basisliniengetrengt (oben), eine Detektion einer 0,05 %igen Lösung ist noch gut möglich (unten).

## Fazit:

Die SFC bietet für viele analytische Fragestellungen deutliche Vorteile:

- Andere Selektivitäten (Kombination von stationärer und mobiler Phase) erweitern die Möglichkeiten zur Stofftrennung.
- Durch den Einsatz des inerten und ungiftigen Kohlendioxids können organische Lösungsmittel ersetzt werden.
- Die höhere Analysengeschwindigkeit führt zu verringerter Bearbeitungsdauer.
- Sie ist besonders geeignet für Enantiomerentrennungen auf Normalphasen.

Gerade bei der präparativen Isolierung von Fraktionen spielt die SFC ihre Vorzüge aus:

- schonende Aufkonzentrierung der Fraktionen durch Verdampfen von Kohlendioxid
- erhebliche Einsparung von organischen Lösungsmitteln
- effizientere Isolierung von Nebenkomponenten

## Ihr Nutzen:

Mittels der SFC bieten wir Ihnen erweiterte Möglichkeiten zur Stofftrennung. Bislang schwierige oder ungelöste Trennprobleme können wir nun besser bearbeiten. Gerade mittels der präparativen SFC ist es sehr leicht möglich, Metaboliten und andere Nebenkomponenten in der Größenordnung von 10 mg bis 0,5 g als Referenzmaterialien für Sie zu isolieren und ggf. einer Identifizierung mittels NMR zuzuführen.

Wir sichern Ihnen ein hohes Qualitätsniveau aller Untersuchungen zu. Mit der Erfahrung aus einer langen Konzerntradition werden Ihre analytischen Aufgaben von unseren Spezialisten ideenreich und zielstrebig gelöst. Gerne erstellen wir Ihnen für Ihre speziellen Fragen ein individuelles Angebot. Bitte sprechen Sie uns an!

## AQura GmbH

### Standort Marl

Paul-Baumann-Str. 1  
45772 Marl

### Standort Hanau

Rodenbacher Chaussee 4  
63457 Hanau

[www.aqura.de](http://www.aqura.de)

Stand der Information: Dezember 2013