

CHROM. 16,646

PRÄPARATIVE MITTELDRUCK-FLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE

Th. LEUTERT und E. VON ARX

Forschungslaboratorien der Division Pharma, Ciba-Geigy AG, Basel (Schweiz)

(Eingegangen am 7. Februar 1984)

SUMMARY

Preparative medium-pressure liquid chromatography

An efficient preparative medium-pressure liquid chromatography system is described. The unit offers rapid and economic separation of lipophilic compounds on preparative glass columns filled with silica gel by a tamping method. Details for the construction of the chromatograph unit and its operation are given and various types of components such as pumps, pulse dampers, columns, detectors and fraction collectors are discussed.

EINLEITUNG

Die leistungsstarke analytische und mikropräparative High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) hat infolge starker Nachfrage durch Nahrungsmittelkontrolle, Medizinalchemie, Pharmazie und Umweltschutz einen enormen Aufschwung genommen und darf als nahezu ausgereifte Methode angesehen werden. Im Gegensatz dazu wurde die Weiterentwicklung der präparativen Chromatographie in grösseren Säulen eher vernachlässigt. Für präparative Zwecke stellten die 1971 auf dem Markt erschienenen Lobar-Säulen der Firma Merck¹ einen ersten bedeutenden Fortschritt dar. Da mit diesen Fertigsäulen nur maximal 5 g Substanzgemisch aufgetrennt werden können, entwickelten verschiedene Hochschulinstitute^{2,3} und insbesondere Firmen^{4,5} eigene präparative Niederdruck-Systeme, mit denen sich routinemässig grössere Substanzmengen chromatographieren lassen.

Im Gegensatz zur konventionellen präparativen Säulenchromatographie zeichnen sich diese sogenannten präparativen Medium-Pressure Liquid Chromatography-Systeme (MPLC) durch hohe Trennleistung und kurze Chromatographiedauer aus. Durch Verwendung feinkörniger Kieselgele und einer optimierten Fülltechnik wird die Belastbarkeit pro Einheit des Trägermaterials grösser und die Trennqualität erheblich verbessert. In der Regel werden die Säulenfüllungen für mehrere Trennungen verwendet und jeweils mit polaren Lösungsmitteln regeneriert. Zudem ist der Lösungsmittelverbrauch pro Einheit zu trennender Substanz im Prinzip geringer als bei der konventionellen Säulenchromatographie. Ein weiterer Vorteil liegt in der kurzen Chromatographiedauer von maximal 1-2 Stunden, wodurch eine schonende Reinigung von sehr heiklen Präparaten möglich wird.

In den Synthese- und Nachschublaboratorien der Pharma-Forschung von Ciba-Geigy stehen diverse präparative MPLC-Systeme zur Trennung lipophiler Substanzgemische im täglichen Einsatz. Mit der Absicht, die verschiedenen Systeme in vernünftigem Masse zu vereinheitlichen, wurde in der Folge eine Bestandesaufnahme der vorhandenen sowie der im Aufbau begriffenen MPLC-Anlagen durchgeführt und die gesammelten Erfahrungen ausgetauscht. Zusätzlich testete man in einer vergleichenden Versuchsreihe Förderpumpen, Pulsationsdämpfer, Probenaufgabe-Vorrichtungen, Chromatographie-Säulen, Säulenfüllmethoden, Detektionssysteme und Fraktionensammler. Bei der Beurteilung wurden vor allem folgende Kriterien berücksichtigt: maximale Trennleistung, möglichst einfache Bedienung sowie hohe Lebensdauer und geringe Kosten.

Das Resultat dieser Untersuchung ist Gegenstand der vorliegenden Mitteilung.

EXPERIMENTELLER TEIL

In den folgenden Abschnitten sind die von uns verwendeten und untersuchten MPLC-Geräte und Bauteile im Detail beschrieben und die damit über einen längeren Zeitraum gesammelten Erfahrungen dargelegt.

Präparative MPLC-Anlage

Eine für Syntheselaboratorien, zur Trennung lipophiler Substanzgemische, geeignete präparative MPLC-Anlage ist in Fig. 1 dargestellt. Durch einfache Variation der einzelnen Bauteile lässt sich dieses Mehrzweck-System auch sehr speziellen Anforderungen anpassen.

Pumpen

Die chromatographische Auftrennung von 1–100 g eines lipophilen Substanzgemisches bei einer Dauer von maximal 1–2 Stunden erfordert im allgemeinen eine Förderleistung von 25–170 ml/min bei einem Förderdruck von max. 20 bar. Untersuchungen mit Förderpumpen, die diesen Anforderungen genügen, erweisen sich als schwierig und zeitraubend; die Pumpen werden üblicherweise in kleinen Serien gefertigt oder sind sogar Einzelanfertigungen, und die Hersteller können nicht in jedem Falle Vorführmodelle im geeigneten Zeitpunkt zur Verfügung stellen. Dennoch gelang es, 9 Modelle mit verschiedensten Förderprinzipien unter praktischen Bedingungen zu beurteilen. Dabei zeigten unsere Untersuchungen, dass eine Förderung des Fließmittels durch teure, pulsationsfreie Dreikopfpumpen nicht unbedingt nötig ist. Auch stark pulsierende Einkopfpumpen lassen sich ohne Einbusse der Trennqualität einsetzen, falls die Pulsation durch einfache Massnahmen (s. *Pulsationsdämpfung*) auf ein vernünftiges Mass reduziert wird.

Folgende Pumpen stehen in unseren Laboratorien erfolgreich im täglichen Einsatz: Lewa FCM-06-1, Stahl-Membrane, max. Leistung 166 ml/min bei einem Druck von 53 bar; Lewa HK-75-3, Dreikolbendosierpumpe, max. Leistung 170 ml/min bei einem Druck von 50 bar oder 560 ml/min bei Normaldruck; Labomatic MD-80, 8 mm Keramik-Kolben, max. Leistung 100 ml/min bei einem Druck von 18 bar; Labomatic MD-100, 10 mm Keramik-Kolben, max. Leistung 156 ml/min bei einem Druck von 12 bar.

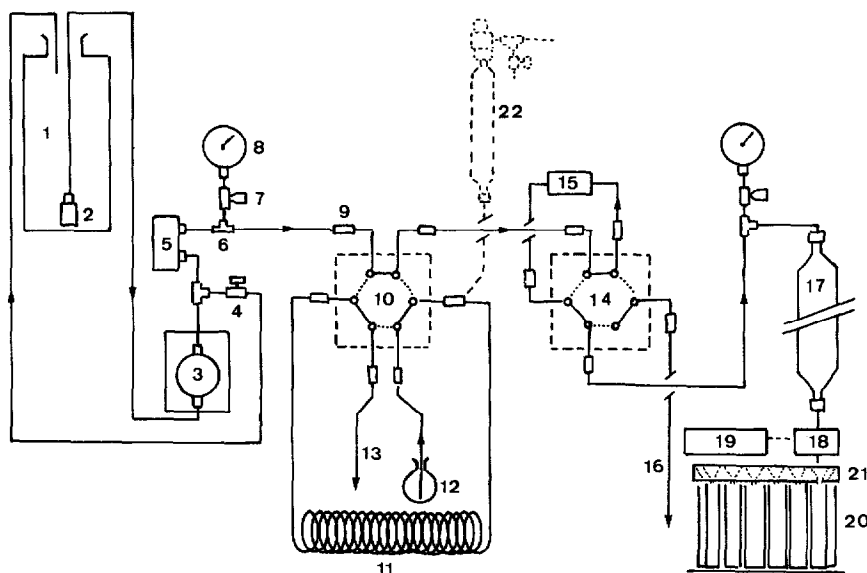


Fig. 1. Präparative MPLC-Anlage. 1 = Lösungsmittel, 2 = Ansaugfritte, 3 = Pumpe, 4 = Entlüftung, 5 = Pulsationsdämpfer, 6 = Union-Tee, 7 = Nupro-Nadelventil, 8 = Manometer (40 bar), 9 = Verbindungsmuffe und Nippel für 3 mm PTFE-schlauch, 10-13 = Probenaufgabesystem I, 10 = Vierwegventil, 11 = PTFE-spirale (40 m für max. 70 ml Probenlösung), 12 = Probenlösung, 13 = Ansaugstutzen, 14-16 = Filterregenerierung, 14 = Vierwegventil, 15 = Nuprofilter, 16 = Ausgang, 17 = Trennsäule, 18 = Detektor, 19 = Schreiber, 20 = Fraktionensammler, 21 = Ablaufring, 22 = Probenaufgabesystem II (vgl. Fig. 2).

Pulsationsdämpfung

Getestet wurden Membranpulsationsdämpfer mit unterschiedlichen Dämpfungsprinzipien sowie ein langer dünner PTFE-schlauch (vgl. Tabelle I).

Beim Federmembrandämpfer von FMI, Modell PD-60-LF (Labomatic), muss der Federgegendruck fortlaufend dem jeweiligen Förderdruck angepasst werden, wobei bis zum zulässigen Höchstförderdruck von 7 bar eine gute Pulsationsdämpfung

TABELLE I

PULSATIONS DÄMPFUNG

Pumpe, Labomatic MD-80 bei einer Förderleistung von 95 ml/min; Säulen, 240 g bzw. 750 g Labochromsäulen, trocken gefüllt mit Merck LiChroprep Si 60, 25-40 μm ; Fliessmittel, Hexan Essigester (4:1); Manometer, WIKA (0-40 bar), direkt vor Säule montiert.

<i>Pulsationsdämpfer</i>	<i>240 g Säule Pulsation in bar</i>	<i>750 g Säule Pulsation in bar</i>
Ohne Dämpfung	8 -17	7 -15
40 m PTFE-schlauch I.D. 1.5 mm, O.D. 3 mm	10.5-13.5	8.5-11.5
Lewa MPD-3, mit 7 bar Gegendruck aufgeladen	12.5-14	9.5-10
Labomatic MDP-20	12.5-13.5	10 -11

beobachtet wird. Bei stärkerer Druckbelastung (10 bar) erfolgte nach einigen Betriebstagen ein Bruch der Membrane unter Ausfliessen des Lösungsmittels.

Lewa Membran-Gasdämpfer (z.B. mit 50 ml Inhalt) benötigen eine Stickstoff-Druckflasche zum Aufbau des Gegendruckes, wobei praktisch eine totale Dämpfung erreicht wird, wenn der eingestellte Gasdruck genau dem Förderdruck entspricht. Der Lewa Membran-Gasdämpfer MPD-3 mit 2 ml Inhalt wurde von uns mit Stickstoff auf 7 bar, dem erwarteten geringsten Förderdruck, einmalig aufgeladen. Die Dämpfungswirkung setzt bei diesem Arbeitsdruck ein und bleibt bis zum 3-fachen Förderdruck von ca. 20 bar erhalten, so dass eine starke, wenn auch nicht totale, Drosselung der Pulsation resultiert.

Nach unseren praktischen Erfahrungen wird durch den Einsatz eines 40 m langen PTFE-schlauches (I.D. 1.5 mm, O.D. 3 mm), der gleichzeitig als Probenspirale (Fig. 1, Pos. 11) verwendet werden kann, eine starke Reduktion der Pulsation erreicht, wobei je nach Förderdruck die Restpulsation nur noch 3–5 bar beträgt. Dabei muss die Pumpe allerdings den zusätzlichen Eigenwiderstand der Probenspirale von ca. 4 bar kompensieren, damit die ursprüngliche Förderleistung aufrechterhalten werden kann.

Neben dem erwähnten PTFE-schlauch kommen in unseren MPLC-Anlagen praktisch ausschliesslich federhydraulische Membranpulsationsdämpfer MDP-20 von Labomatic zum Einsatz. Der Vorteil dieses Dämpfungsprinzips liegt in der Unabhängigkeit von Gasdruckflaschen sowie in der konstant guten Dämpfung über den grossen Druckbereich von 0–20 bar, wobei die Restpulsation kaum je 2 bar übersteigt.

Filter

Zum Schutze der Pumpe sowie der Ventile ist es von Vorteil, den Ansaugschlauch mit einem Filter zu versehen, insbesondere wenn Lösungsmittel von technischer Reinheit direkt aus Tanks oder Kanistern zur Anwendung gelangen. Wir verwenden deshalb generell spezielle 5- μ m Metallfritten (Diam. 22 mm, Länge 42 mm). Aufgrund praktischer Erfahrungen über längere Zeit empfiehlt es sich überdies, zwischen Probenaufgabesystem und Trennsäule einen zweiten Leitungsfilter (Fig. 1, Pos. 15) einzuschalten. Ausgezeichnet bewährt haben sich dabei kleine, billige 7- oder 15- μ m Metallfritten (Diam. 8 mm, Länge 12 mm), die durch kurzes Spülen in der Gegenrichtung von Verunreinigungen wieder befreit werden können.

Manometer

Die Anschaffung teurer, piezoresistiver Druckmessgeräte erübrigt sich, da konventionelle mechanische Manometer (0–40 bar, evtl. mit Nadelventil ausgerüstet) eine genügende Genauigkeit zeigen und robust gebaut sind. Von Vorteil ist der Einbau von zwei Manometern (Fig. 1), wobei das erste nach dem Pulsationsdämpfer und das zweite unmittelbar vor dem Säuleneingang installiert wird. Mit dieser Anordnung lässt sich sofort eine beginnende Verstopfung des Vierwegventils oder des Leitungsfilters feststellen.

Probenaufgabe-System

Eine direkte Auftragung der Substanzgemische via Membranpumpe ist wohl möglich, aber nicht empfehlenswert, da eine gewisse Verdünnung und Verschleppung

der Probe beobachtet wird. Aus diesem Grunde verwenden wir bei kleinem Trennvolumen sog. Probenspiralen, bestehend aus 40 m PTFE-schlauch (I.D. 1.5 mm, O.D. 3 mm) mit ca. 70 ml Inhalt, wobei die gelösten Proben mit einer Spritze aufgespresst oder vorteilhafter mit Vakuum aufgesogen werden. Für schlecht lösliche Substanzen mit grossem Aufgabevolumen sowie für mengenmässig grosse Trenngemische ist jedoch die im folgenden beschriebene Probendosiervorrichtung der erwähnten Probenspirale vorzuziehen. Die Vorrichtung (Fig. 2) besteht aus einer Labochrom PGC Glassäule (200 ml) mit einem Dosierventil am Säulende und einem modifizierten oberen Säulenverschluss, der über einen PTFE-schlauch an einer Helium-Druckflasche angeschlossen ist. Der Ausgang dieses Systems wird anstelle der Probenspirale an das Vierwegventil (Fig. 1, Pos. 10) angeschlossen. Bei geschlossenem unterem Dosierventil wird die Probenlösung durch den oberen Spezialsäulenverschluss eingefüllt. Anschliessend wird Helium als Triebgas eingeleitet und durch Öffnen des Dosierventils die Probelösung mit einem Druck von 1–4 bar auf die Trennsäule gepresst. Sobald die letzten Lösungsmittelmengen den PTFE-schlauch zwischen Dosierventil und Vierwegventil passieren, wird das Dosierventil wieder zuge dreht. Zum Nachwaschen kann dieser Vorgang wiederholt werden.

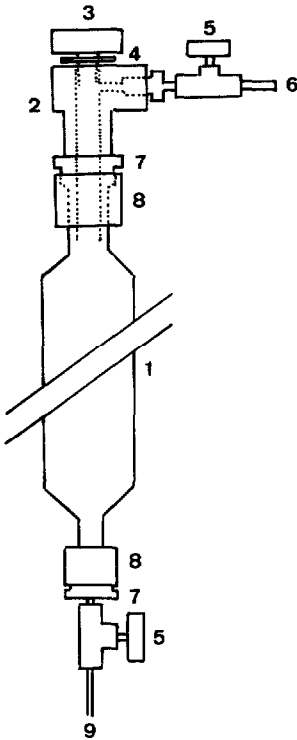


Fig. 2. Probenaufgabesystem II. 1 = Labochrom PGC Glassäule 200 ml (oder grösser für mehrfache Einspritzung), 2 = Metallkopf, 3 = Verschluss für Probeneinlass, 4 = Dichtung, 5 = Dosierventil, 6 = He-Anschluss, 7 = Ueberwurf-Mutter, 8 = Ueberwurf-Hülse, 9 = Anschluss an Vierwegventil (Fig. 1, Pos. 22).

Chromatographiesäulen

Ausserordentlich gut bewährt hat sich eine Weiterentwicklung der Glassäulen von Glatz². Diese Säulen wurden gemäss unseren Anforderungen und Wünschen von der Firma Labomatic weiterentwickelt und der ausgereifte Säulentyp in unseren Laboratorien eingehend und mit grossem Erfolg getestet. Die bis 20 bar druckfesten Glassäulen sind an beiden konischen Enden mit identischen, flüssigkeitsinerten PTFE-abschlüssen mit eingebauten 25- μm Metallfritten versehen und gestatten eine ständige visuelle Beobachtung des Trägermaterials auf seiner ganzen Länge. Dieses "Labochrom PGC" Sortiment umfasst sowohl kleine als auch sehr grosse Säulen für mehrere Kilogramm Trägermaterial. Folgende Säulentypen stehen in unseren Laboratorien im Einsatz (vgl. Tabelle II).

TABELLE II
SÄULENTYPEN

I.D. (mm)	Länge (mm)	Volumen (ml)	Kieselgel 25-40 μm (g)	Trennbare* Probenmenge (g)
37	480	420	ca. 240	ca. 5
52	675	1300	740	15
74	680	2460	1400	30
74	870	3280	1900	40
105	760	5000	2900	60

* Richtwerte, abhängig vom Trennproblem.

Füllen der Chromatographiesäulen

Die Labochrom PGC Glassäulen wurden mit Kieselgel LiChroprep Si 60 der Firma Merck (Korngrösse 25-40 μm , No. 9390) sowohl nach Trocken- als auch Nass-Füllmethoden aufgefüllt. Dabei zeigte sich in bezug auf die Packungsdichte die eindeutige Überlegenheit der Trockenfüllung; gegenüber der Slurry-Fülltechnik wird eine mindestens 20% dichtere Packung erreicht (vgl. Tabelle III).

Bei der Trockenfüllung wiederum wurden verschiedene Methoden untersucht. Die Anwendung eines Pressluftvibrators erbringt keine optimale Packungsdichte, da das Trägermaterial in Schwingung gerät und sich nicht homogen setzt. Durch Klopfen in axialer Richtung mit einem Gummihammer oder durch einfaches axiales Aufklopfen auf eine harte Unterlage lassen sich bedeutend dichtere und homogenere

TABELLE III
SÄULENFÜLLUNGEN MIT MERCK LICHROPREP SI 60 (KORNGRÖSSE 25-40 μm)

Füllmethode	Packungsdichte (mg/cm ³)
Slurry in Chloroform	426
Slurry in Methanol	430
Slurry in Wasser	437
Trockenfüllung (klopfen mit Gummihammer)	505
Trockenfüllung (klopfen mit Füllmaschine)	570

Packungen erreichen; dieser manuelle Füllvorgang nimmt jedoch mehrere Stunden in Anspruch. Angeregt durch die interessante Arbeit von J. Klawiter *et al.*⁶ konstruierten wir eine einfache maschinelle Säulenfüllvorrichtung (Fig. 3), die reproduzierbar dichte und homogene Packungen mit sehr guten Trenneigenschaften ergibt: Ein regelbarer Elektromotor mit Exzenter hebt die auf einem konischen Kunststoffring gelagerte Säule *ca.* 120 mal in der Minute um 2 cm in die Höhe und lässt sie jeweils auf eine harte Stahlunterlage niederfallen, wobei aus einem Vorratsgefäß fortwährend Kieselgel durch eine Lochplatte (Diam. 0.9 mm) in kleinsten Portionen (3–4 g/min) in die Säule rieselt. Der ganze Füllvorgang dauert mehrere Stunden, benötigt aber keine Aufsicht. Mit dieser einfachen Technik werden in unseren Laboratorien Säulen bis zu 3 kg Inhalt mit reproduzierbaren Trennqualitäten gefüllt.

Die nach der Trockenfüllmethode präparierten Säulen werden mit einem Gemisch von Hexan-Essigsäureäthylester (4:1) im Kreislaufverfahren ohne Unterbre-

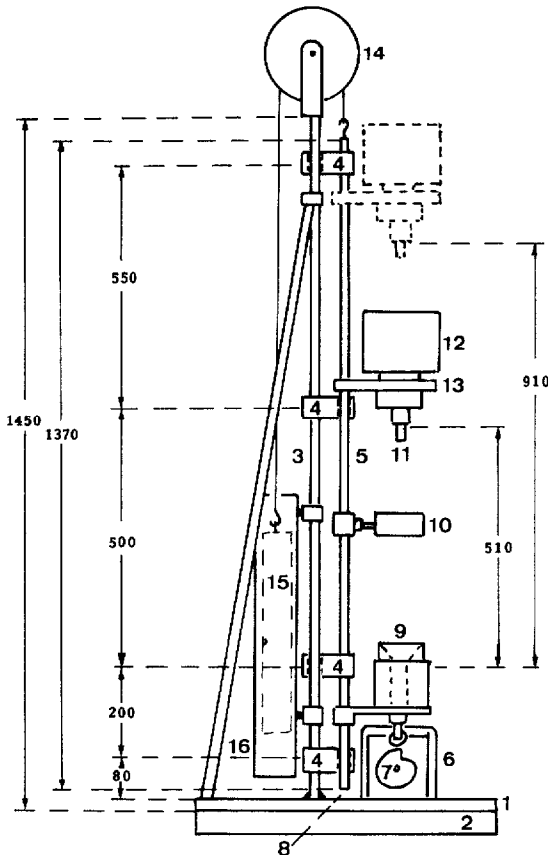


Fig. 3. Säulenfüllvorrichtung. 1 = Grundplatte, 2 = Schalldämpfung, 3 = Führungswelle, 4 = Gleitlager, 5 = bewegliche Welle, 6 = Antriebsmotor, 7 = Exzenter (Schnecke), 8 = Aufschlag, 9 = Trennsäulenlager, 10 = Befestigung (Rohrschelle), 11 = Säulenanschluss (Nippel) mit Lochplatte (öffnung 0.9 mm), 12 = Vorratsgefäß für Kieselgel, 13 = Halter verstellbar für Säulen von 510 bis 910 mm Länge, 14 = Rolle für Gegengewicht, 15 = Gegengewicht 3 kg, für Säulen von 2.5 bis 5 kg Totalgewicht, 16 = Führung für Gegengewicht.

chung gespült, bis alle Luft entwichen und die heisse Aktivierungszone das Säulenende passiert hat. Bei diesem Vorgang senkt sich normalerweise das Trägermaterial im oberen Teil des Säulenkonus etwas ab. Das Wiederauffüllen erfolgt am einfachsten mit einer Laborspritze, die mit trockenem Kieselgel gefüllt ist.

Zur Überprüfung der Packungsqualität einer frisch gefüllten Säule empfiehlt es sich, vor dem ersten Einsatz ein Testchromatogramm aufzuzeichnen. Dabei hat sich als Standard-Testlösung ein Gemisch bestehend aus den Dimethyl-, Diäthyl- und Dibutylestern der Phthalsäure ausgezeichnet bewährt (vgl. Figs. 7, 8 und 9).

In der Regel werden Säulenfüllungen nach jeder chromatographischen Trennung regeneriert. Dies erfolgt am besten durch Spülen mit Methanol, dann Essigester und abschliessend Hexan, wonach die Säulen wieder einsatzbereit sind. Nach *ca.* 50 Trennvorgängen empfiehlt es sich, die Säulen zu leeren. Dazu entfernt man die Säulenabschlüsse und stellt den Glaskörper auf eine grosse Labor-Saugflasche mit Gummimanschette. Das Trägermaterial wird zuerst durch Vakuum trockengesaugt, wonach es in einem mehrstündigen Vorgang in die Saugflasche rieselt.

Detektion

Praktisch alle auf dem Markt erhältlichen UV-Geräte sind für die präparative MPLC wenig geeignet, da sie primär für einen analytischen Einsatz konzipiert wurden. Beim Auffangen des Eluens treten die Substanzen bei präparativen Trennungen oft in solch hohen Konzentrationen auf, dass analytische UV-Standardzellen bei stark absorbierenden Verbindungen nicht mehr genügend Licht durchlassen und "schliessen". Splitting-Systeme oder spezielle präparative Durchflusszellen von nur 0.1 mm Schichtdicke können in diesen Fällen Abhilfe schaffen. Die idealste Lösung bringt jedoch der präparative LC-UV-Detektor GOW-MAC 80-800. Bei diesem Gerät (Fig. 4) wird das Eluat kontinuierlich durch eine Nadel fächerförmig als dünner

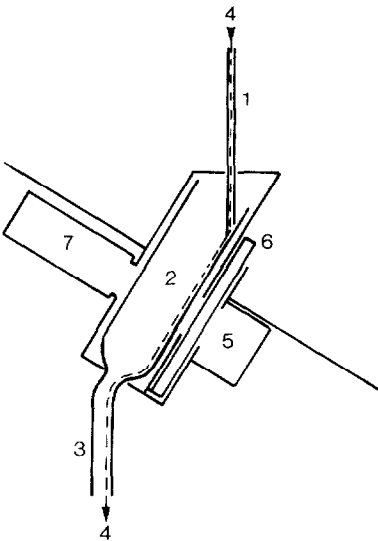


Fig. 4. Schnitt durch den GOW-MAC Detektor. 1 = Nadel, 2 = Quarzschicht, 3 = zum Fraktionssammler, 4 = Eluat, 5 = UV-Lampe, 6 = Filter, 7 = Fotozelle.

Film auf einer 6.5 cm breiten Quarzplatte verteilt. Die Registrierung erfolgt mit einem UV-Strahl quer durch diesen Eluat-Film. Das maximale Durchflussvermögen dieser Zelle beträgt 500 ml/min.

Ein Vergleich verschiedener Detektoren wird in Fig. 5 gezeigt.

Fraktionensammler

Bei präparativen Trenngemischen von 5–50 g hat sich ein Labocol Roto-Fraktionensammler (Labomatic) mit 20 Gläsern à 120 bzw. 240 ml ausgezeichnet bewährt. Da sowohl die Pumpe wie auch der Schreiber via Fraktionensammler gesteuert werden und nach 20 Fraktionen automatisch abschalten, benötigt eine solche Anlage keine Aufsicht. Zusätzlich gibt das Steuergerät beim Fraktionenwechsel jeweils ein Signal auf den Schreiber. Nach unseren Erfahrungen genügen üblicherweise 20–40 Fraktionen zur vollständigen Trennung von präparativen Substanzgemischen. Der beim Fraktionenwechsel auftretende minimale Substanzverlust zwischen den Auffanggläsern kann leicht vermieden werden, indem ein Tropfring aus Polyäthylen (Fig. 1, Pos. 21) auf die Gläser aufgesetzt wird.

Für sehr grosse Fraktionen eignet sich ein Fraktionensammler der Firma La-

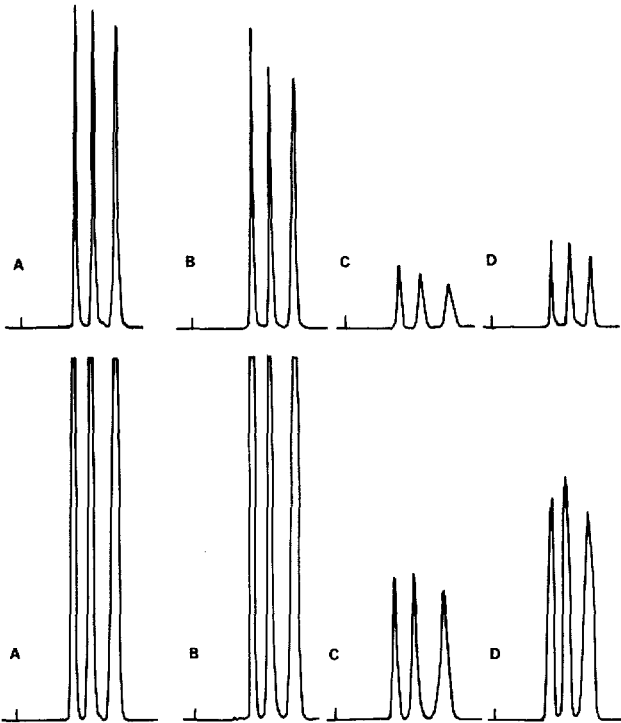


Fig. 5. Vergleich von UV-Detektoren (254 nm) bei minimaler Empfindlichkeit A = Uvikon-725, Zellschichtdicke 0.5 mm, B = Knauer 714.97, Zellschichtdicke 0.4 mm, C = Uvikon-725, Zellschichtdicke 0.1 mm, D = GOW-MAC 80-800, Probenmenge: oben 0.9 g, unten 3 g Estergemisch (Phthalsäuredimethyl-, diäthyl- und dibutylester zu gleichen Teilen), Fließmittel: Hexane-Essigester (4:1), Säule: 420 ml Labochromsäule gefüllt mit 240 g Merck LiChroprep Si 60 (25–40 μ m). Pumpe: Lewa FCM-06-1, Fluss: 90 ml/min., Druck: 15 bar.

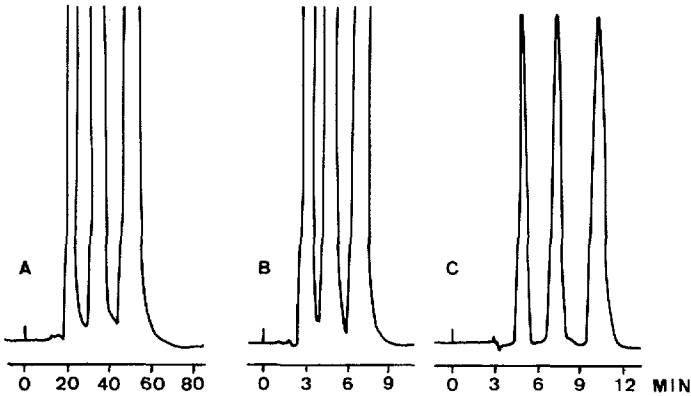


Fig. 6. Trennsäulenvergleich mit 900 mg Phthalsäureester-Gemisch, A = Normaldruck, B = Flash, C = MPLC. Sonstige Bedingungen vgl. Tabelle IV.

bortec. Er bietet die Möglichkeit, 24 Fraktionen in der Grössenordnung von 50 ml bis 2000 ml zu separieren.

Instrumentenausrüstung

Fittinge, Absperrventile, Nadelventile, Filter: Swagelok, Cajon, Whitey and Nupro. Ansaugfritten, Labofit-Schlauchkupplungen, Trennsäulen, Fraktionen-sammler, Kolbenpumpen, Pulsdämpfer und Probenaufgabesystem: Labomatic (Allschwil, Schweiz). Grosser Fraktionensammler: Labortec (Münchenstein, Schweiz). Rheodine 4-way PTFE Rotary Valve, Nippel, Muffen und Flanschwerkzeug: Ismatec (Zürich, Schweiz). Lewa-Pumpen: Herbert Ott (Basel, Schweiz). Prep LC-UV-Detector-System GOW-MAC: Brechbühler AG (Schlieren/Zürich, Schweiz).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Zur Charakterisierung der Trenneigenschaften der beschriebenen Säulen wurden diese mit Normaldruck- und Flash⁷-Säulen verglichen, wobei jeweils die gleiche Menge Prüfgemisch (Dimethyl-, Diäthyl- und Dibutylester der Phthalsäure zu gleichen Teilen) pro Gramm Trägermaterial aufgetragen wurde (Fig. 6, Tabelle IV).

Sowohl Normaldruck als auch Flash-Säulen zeigen unter den jeweils optimalen Eluierungsbedingungen ungefähr die gleiche Auflösung. Verglichen mit diesen Stan-

TABELLE IV

TRENNSÄULENVERGLEICH: AUFTRENNUNG VON 900 mg PHTHALSÄUREESTER-GEMISCH MIT HEXAN ESSIGSÄUREÄTHYLESTER (4:1)

	Kieselgel (240 g), Korngrösse (μm)	Druck (bar)	Fluss (ml/min)	Auflösung (R_s)	Zeit (min)
Normaldruck	63-200		25	1.5	64
Flash	40-63	0.75	140	1.6	9
Labochrom MPLC	25-40	12	100	3.4	12

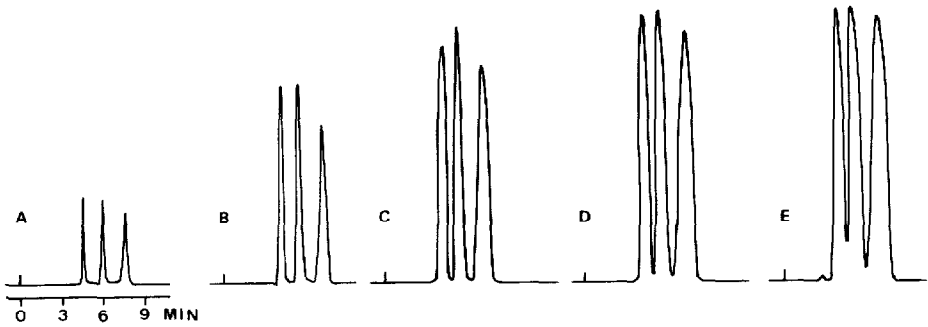


Fig. 7. Belastbarkeit einer Labochrom-Säule gefüllt mit 240 g LiChroprep Si 60 25–40 μm . Pumpe Lewa FCM 06-1, Druck: *ca.* 15 bar, Fluss: *ca.* 80 ml/min., Detektor: GOW-MAC 80-800, Schreiber: Linear 1100, 3 cm/min., Fließmittel: Hexan-Essigester (4:1), Trenngemisch: Phthalsäure-dimethyl-, -diäthyl- und -dibutylester, zu gleichen Teilen. A = 900 mg, B = 2.7 g, C = 6 g, D = 9 g, E = 12 g.

dard-Chromatographie-Techniken ergibt die Trennung auf MPLC-Säulen eine mindestens doppelt so gute Auflösung. Enorme Unterschiede zeigen sich auch beim Zeitbedarf des Trennvorganges, wobei Flash- und MPLC-Chromatographie 5–7 mal rascher als eine konventionelle Trennung bei Normaldruck erfolgen. Erwähnenswert ist auch die grosse Belastbarkeit der MPLC-Säulen. Noch mit einem Verhältnis von 1:25 Substanzgemisch-Trägermaterial lässt sich eine quantitative Auftrennung erreichen (Figs. 7, 8 und 9).

ZUSAMMENFASSUNG

Ein leistungsfähiges präparatives Mitteldruck-Flüssigkeitschromatographie-System wird beschrieben. Das System eignet sich zur raschen und ökonomischen Auftrennung lipophiler Substanzgemische auf präparativen Glassäulen, die nach einer Trockenfüllmethode mit Kieselgel gefüllt werden. Aufbau und Betrieb sind im Detail beschrieben und die gesammelten Erfahrungen mit verschiedenen Bauteilen,

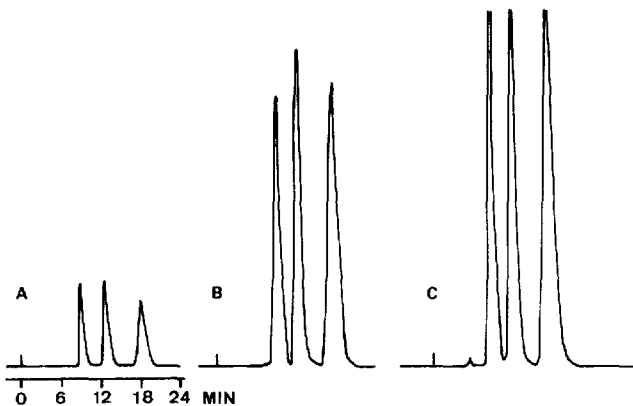


Fig. 8. Füllung 740 g, Druck: *ca.* 16 bar, Fluss: 140 ml/min., Schreiber: 6 cm/min. Trenngemisch: A = 3 g, B = 18 g, C = 27 g. Sonstige Bedingungen wie Fig. 7.

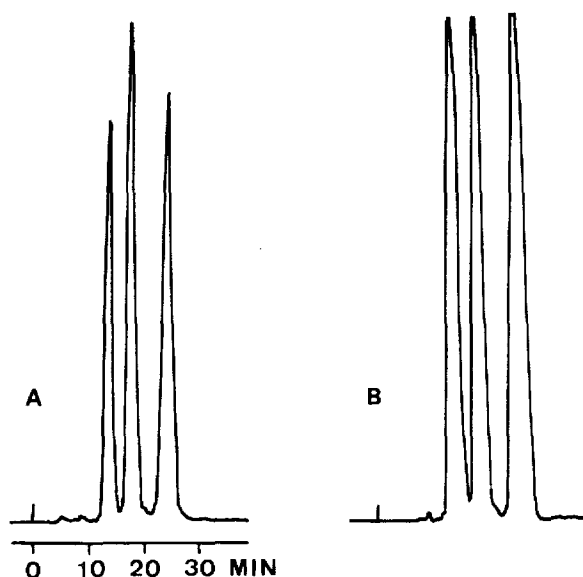


Fig. 9. Füllung 1400 g, Druck: ca. 12 bar, Fluss 180 ml/min., Schreiber: 10 cm/min., Trenngemisch: A = 30 g, B = 54 g. Sonstige Bedingungen wie Fig. 7.

wie Pumpen, Pulsationsdämpfer, Säulen, Detektoren und Fraktionensammler werden geschildert.

DANK

Für die wertvolle Unterstützung beim Testieren der beschriebenen Bauteile danken wir den Herren P. Huber, C. Moser, P. Richert, W. Rutsch und A. Schmidt. Für die technische Hilfe beim Bau der beschriebenen Säulenfüllvorrichtung möchten wir den Herren F. Bruder, M. Rudin und K. Wagner unseren Dank aussprechen.

LITERATUR

- 1 Deutsche Offenlegungsschrift, Nr. 2132686 (18.1.1973); *CA.*, 78 (1973) 99584.
- 2 B. Glatz, *Dissertation*, Stuttgart, 1976.
- 3 A. I. Meyers, J. L. Slade, R. K. Smith und E. D. Mihelich, *J. Org. Chem.*, 44 (1978) 2247.
- 4 B. A. Bidlingmeyer und P. A. McDonald, *Abstract Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy*, Cleveland, Ohio, February-March 1977, Paper No. 446.
- 5 E. Godbille und P. Devaux, *J. Chromatogr. Sci.*, 12 (1974) 564.
- 6 J. Klawiter, M. Kamiński und J. S. Kowalczyk, *J. Chromatogr.*, 243 (1982) 207.
- 7 W. C. Still, M. Kahn und A. Mitra, *J. Org. Chem.*, 43 (1978) 2923.