

## 【vol. 31】 ステップグラジエントとは何ですか？なぜそれを使う必要があるのですか？

September 27, 2022

Bob Bickler

私が知るフラッシュクロマトグラフィーを使用する化学者のほとんどは、リニアグラジエントを使用しています。これらのグラジエントは、一般的なもの（特定の時間またはボリュームで X% から Y%）か、複数の勾配変化やアイソクラティックホールドを含む複雑なものかのどちらかです。これらの複雑なグラジエントは、一般的なグラジエントでは精製が必要な化合物に対して十分な分離が得られないため、必要な分離を得るために精製中に作られることがよくあります。

化学者がフラッシュクロマトグラフィーにステップグラジエントを設計して使用することはめったにありません。あなたは疑問に思うかもしれません – ステップグラジエントとは何でしょうか？

ステップグラジエントとは、階段のように垂直・水平に区切られた個々のステップで設計されたメソッドのことです。この階段やステップは、短かったり高かったり、短かったり長かったりしますが、時間をかけて溶媒の強度を上げることで、ターゲット化合物の分離を改善します。ステップグラジエントは天然物の研究で非常によく使用され、抽出のアプローチを模倣しています。弱い溶媒（ヘキサン）から始めて、DCM、EtOAc、メタノールなど、他の溶媒に切り替えて極性を高めます。

フラッシュクロマトグラフィーのステップグラジエントは、通常、それほど急激ではなく、ペアになっている 2 つの溶媒を使用して強度を増す溶媒極性変化を使用するだけです。その理由は、化合物の混合物は溶出溶媒に対する溶解度が異なるため、ある溶媒ブレンドのステップを使用することにより、より強い溶媒ブレンドに出会うまで、ある化合物は溶出し、他の化合物は溶出しないためです（図 1）。これは順相でも逆相でも同じです。

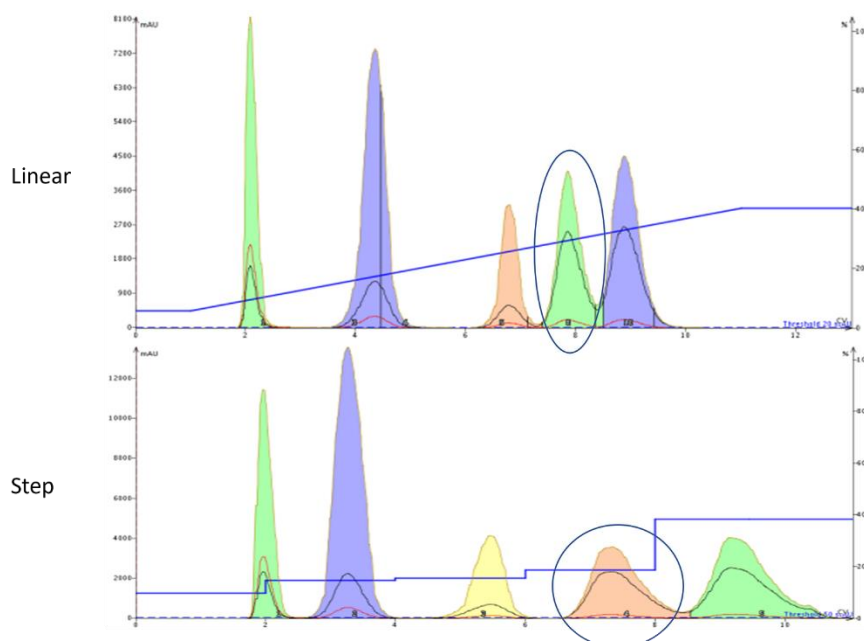


図 1. リニアグラジエント（上）とステップグラジエント（下）の比較。ステップグラジエントは、丸印の化合物が少ない溶媒でより良好な分離を実現しています。

ステップグラジエントはどのように作られるのでしょうか？通常、同じ溶媒を異なる比率で展開した 2 枚の TLC データを使用します。Biotage フラッシュクロマトグラフィシステムは、そのデータを解釈し、ステップグラジエントに変換することができます。

Biotage® Isolera などの一部のフラッシュクロマトグラフィシステムでは、クロマトグラム内の特定のピークまたは化合物をターゲットとして、リニアグラジエント法をステップグラジエント法に変換することができます。このシステムでは、より少ない溶媒でより高い純度でターゲットを単離するためにステップグラジエントを作成します（図 2）。

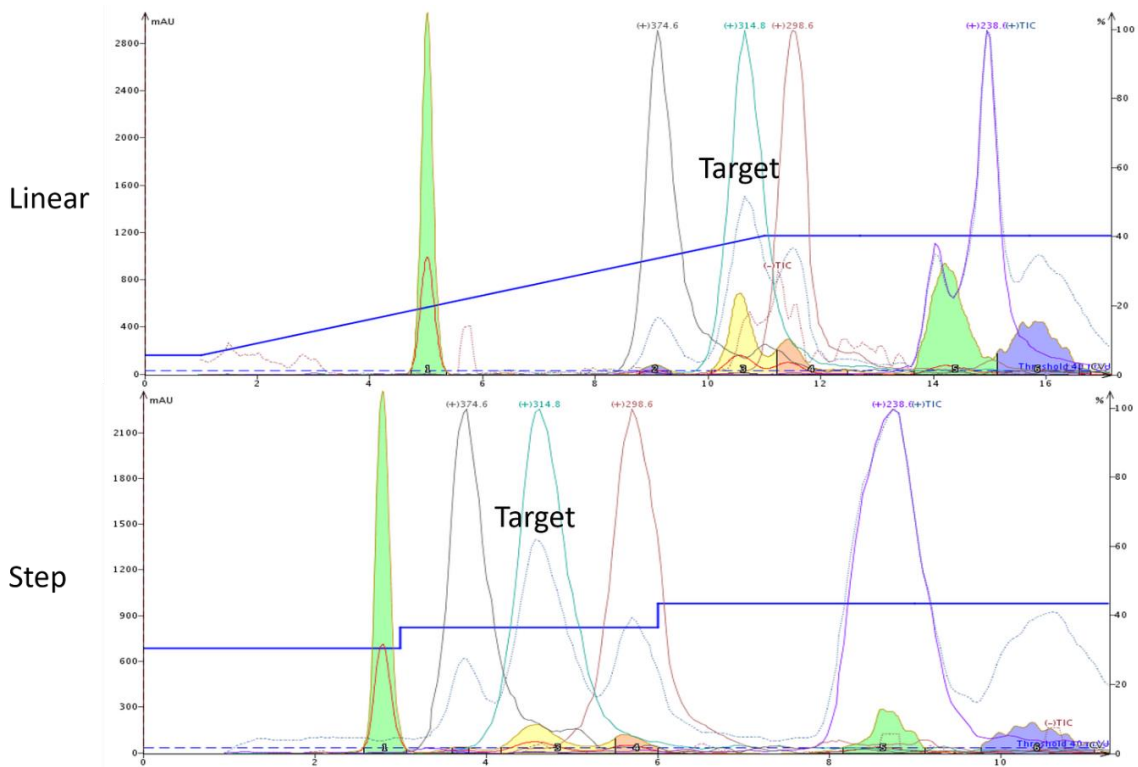


図2. リニアグラジエント（上）からステップグラジエント（下）に変更することで、標的化合物（+ $m/z$  314.8）とその後続副産物（+ $m/z$  298.6）の分離が向上し、溶剤消費量が約 30%削減されました。

ステップグラジエントは、合成反応や天然物の逆相精製を改善するのにも有効です。ステップグラジエントの応用例としてよく知られているのが、麻からの CBD 精製です（図 3）。

これにはいくつかの理由があります。

- 1) リニアおよびアイソクラティック法では CBD と他のカンナビノイドの分離が不十分であること、
- 2) ステップグラジエントは、特にノングラジエント装置を用いた場合に、より効果的にスケールアップすることができること。

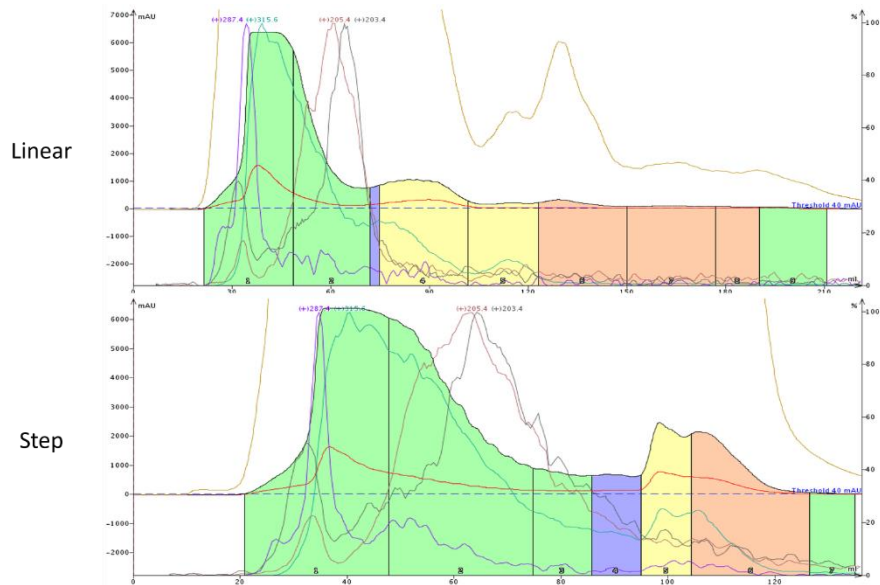


図 3. 70-100%エタノール/水 リニアグラジエント（上）および 70-100%エタノール/水 ステップグラジエントを用いた麻の精製。ステップグラジエントは、溶媒量を約 50%削減しながら、親油性のカンナビノイド（青、黄、ピンクのピーク）が、より極性の高い CBD の緑のピークよりも良好に保持されました。

リニアグラジエントは「簡単なボタン」かもしれませんが、ステップグラジエントを使用して、精製に必要な溶媒の量を減らしながらターゲット化合物の純度を最大限に高めることができます。

フラッシュクロマトグラフィーの詳細については、当社のホワイトペーパー「Inspiring Productivity with Modern Flash Chromatography」をダウンロードしてください。

Learn More

元の記事 ; <https://selekt.biotage.com/blog/what-is-a-step-gradient-and-why-should-i-use-it>