

[vol. 41] フラッシュクロマトグラフィーシステムに ELSD を追加すべき理由

Bob Bickler

ELSD (蒸発光散乱検出器) は、多くの市販のフラッシュクロマトグラフィーシステムで使用できるアクセサリです。主に糖類のような紫外線 (UV) での検出が困難な化合物を検出するために使用され、熱、窒素、および LED またはレーザー光源を用いて蒸発した化合物粒子を検出します。その実用性は UV 吸収を持たない化合物の検出にとどまらず、フラッシュシステムに ELSD を追加することを検討すべき理由となっています。

ELSD は他にどのような用途に対応できるのでしょうか？ 精製で使用される溶媒によって UV 吸収が妨げられる分子を効果的に検出できます。多くの有機化合物と同じ波長範囲で UV を吸収する溶媒がいくつかあり、これはクロマトグラフィーにおいて一般的な課題となっています。

最も一般的なフラッシュクロマトグラフィーの溶媒の 1 つは酢酸エチル (EtOAc) で、通常ヘキサンまたはヘプタンと共に使用されます。飽和炭化水素溶媒とは異なり、酢酸エチルは UV を透過しません。198~252nm の範囲で UV を吸収し、最大吸収は 220 nm 付近にあります (図 1 参照)。

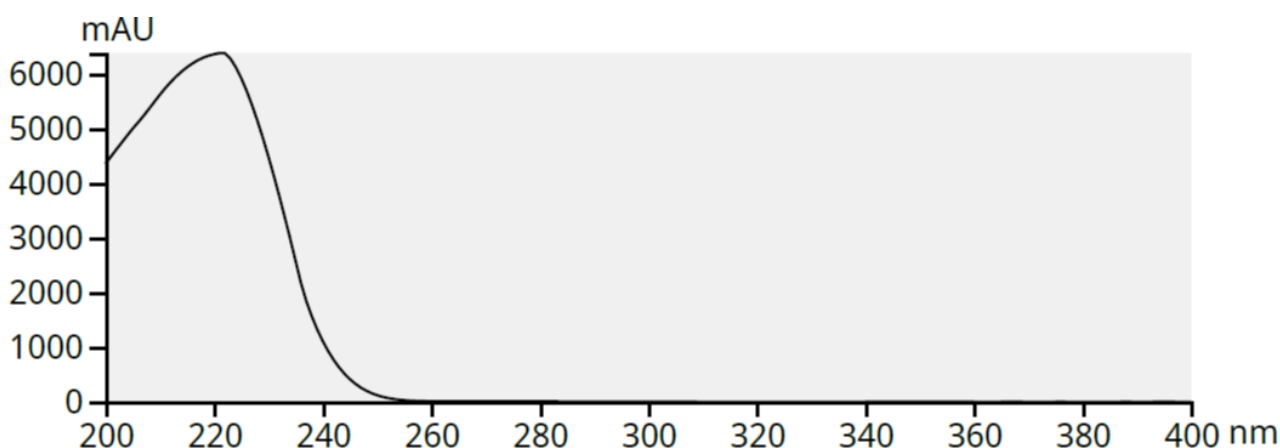


図 1. EtOAc UV スペクトル。

多くの合成化合物は 254 nm 以下の波長で最も強く UV を吸収するため、酢酸エチル (EtOAc) をクロマトグラフィー溶媒として使用すると検出が難しくなることがあります。

例えば、2 段階のイミド合成を考えてみましょう。最初の合成では、マレイン酸無水物と 1,3-シクロヘキサジエンによる古典的な Diels-Alder 反応を行い、ビスシクロ[2.2.2]オクタ-5-エン-2,3-ジカルボン酸無水物を生成しました (図 2 参照)。

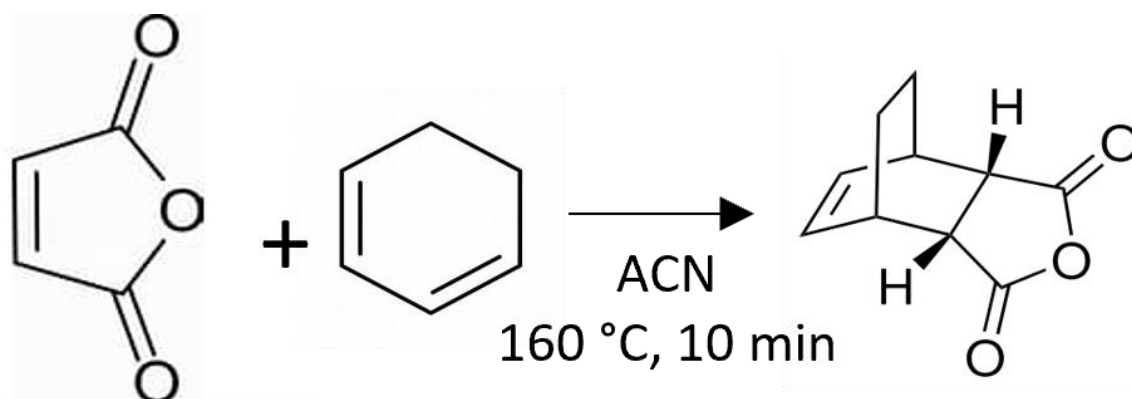


図2. Diels-Alder 反応。

この合成はアセトニトリルを反応溶媒として行われ、反応混合物は水/メタノールのグラジエントを用いた逆相フラッシュクロマトグラフィーで精製されました。反応物と生成物には少なくとも1つの二重結合が含まれており、また移動相の溶媒は UV 吸収をほとんど示さないため、UV 検出器で化合物を検出できる可能性があります (図3 参照)。

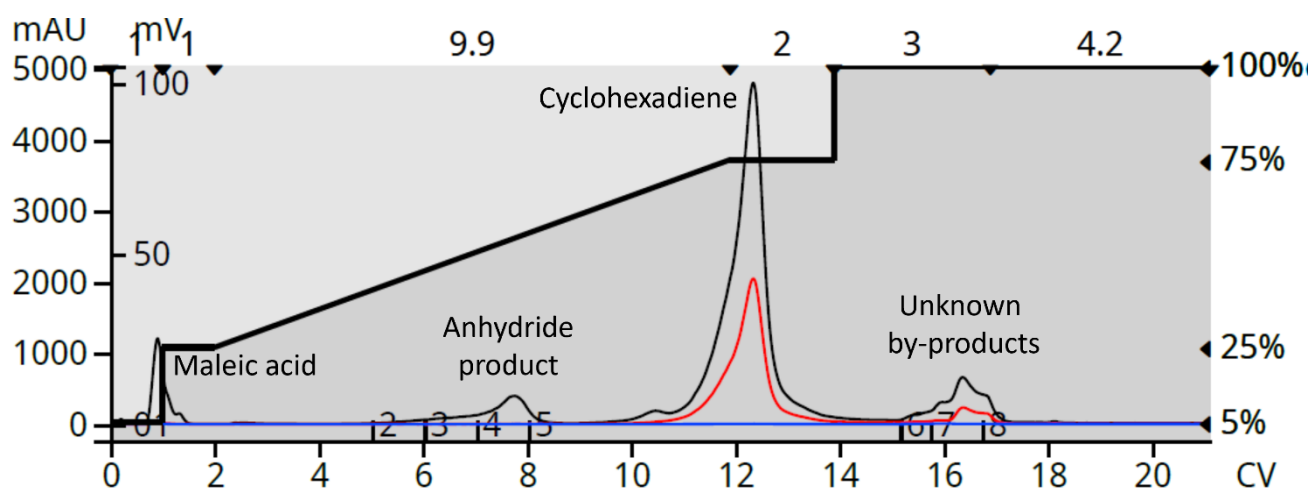


図3. UV 検出による Diels-Alder 精製。

しかし実際には、生成物のピークはモル吸光係数が比較的低く、合成収率が低いことを示していました。生成物は乾燥させても揮発せず固体となるため、反応混合物は ELSD による精製に適したサンプルでした。

ELSD を用いたフラッシュクロマトグラフィーで精製を行うと、UV 検出器よりもはるかに強い応答が得られ、より多くの生成物を回収することが可能になりました (図4 参照)。

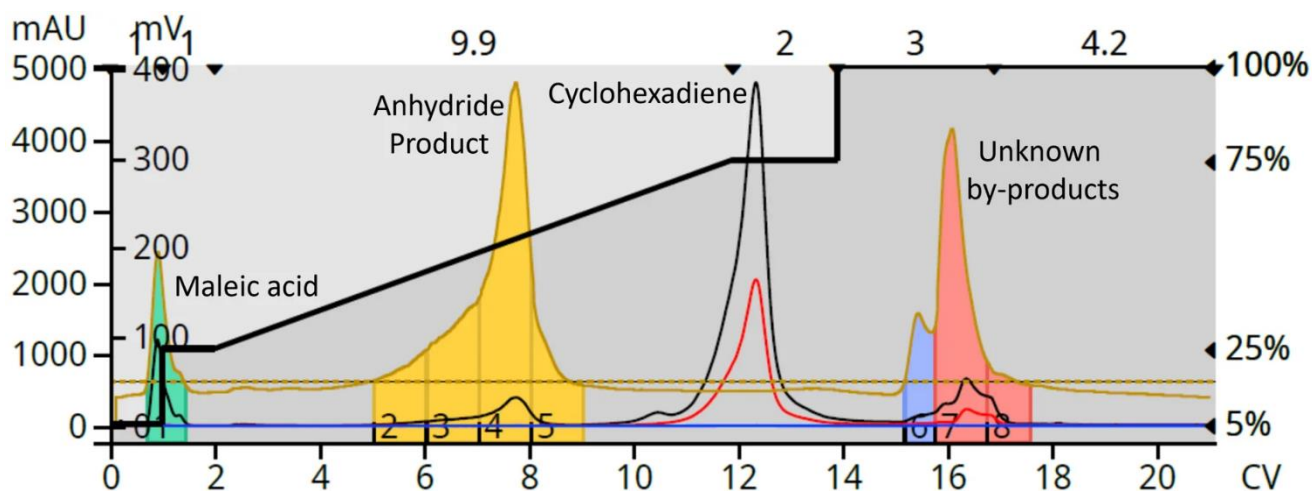


図4. ELSD と UV 検出による Diels-Alder 精製。

ELSD で検出された生成物画分を乾燥させた後、ジクロロメタン/アセトニトリル混合溶媒に溶解し、シクロヘキシルアミンと反応させ、2-シクロヘキシル-3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-4,7-エタノイソインドール-1,3(2H)-ジオン (図5) を生成しました。

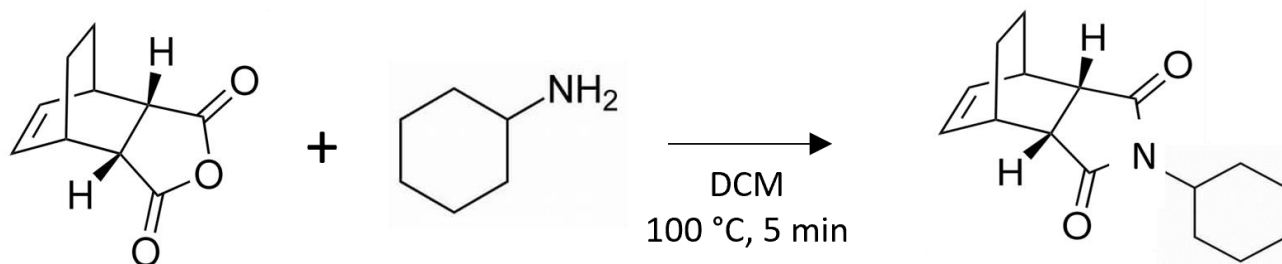


図5. Imide reaction.

この反応により黄色がかったスラリーが生成され、メタノールに可溶であることが確認されました。逆相フラッシュクロマトグラフィーでは適切な精製ができなかったため、ヘプタン/酢酸エチルのグラジエントを用いた順相クロマトグラフィーを行いました。前述したように、酢酸エチル (EtOAc) は 252 nm 以下の波長で UV を吸収するため、生成物が1つの二重結合を含む場合、この移動相では UV 検出だけでは生成物を適切に検出するのは難しい可能性があります。そのため、ELSD を用いて溶出化合物を検出する必要がありました (図6 参照)。

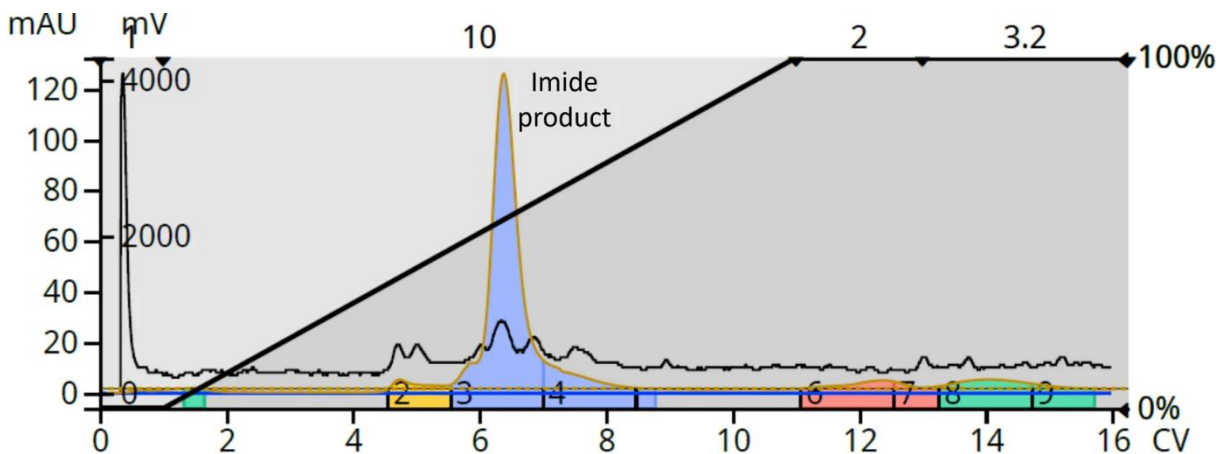


図6. ELSD と UV 検出器を用いたイミドの精製。

データが示すように、反応生成物の適切な検出ができたのは ELSD だけでした。このデータが示しているのは、システムの UV 検出器に ELSD を組み合わせることで、精製中のすべての化合物を検出する可能性が高まるということです。

この記事で使用した製品は以下の通りです：

- Biotage® Selekt
- Biotage® Selekt ELSD
- Biotage® Sfär C18, 30 g
- Biotage® Sfär HC, 10 g
- Biotage® DLV
- Biotage® Initiator+
- Biotage® V-10 Touch

Biotage® Selekt ELSD の詳細については、以下のボタンをクリックしてください。

[Biotage® Selekt ELSD](#)

元の記事； Why you should add an ELSD to your flash chromatography system (biotage.com)