

ピラジン誘導体を用いたカラム性能比較 SNAP Ultra vs SNAP HP-Sil

Bob Bickler, Senior Product Manager

はじめに

ピラジン類は食材のフレーバー付けに用いられる有機化合物です。主には合成ピラジンが用いられますが、ぶどう、ピーマン、エンドウ豆、アスパラガス、ビートの根など果物や野菜に含まれるものもあり、また、たばこやロースト食品にも含まれています^{1,2}。複素環式化合物のピラジン類はシリカに対して様々な親和性を示すため、分離精製が困難な場合があります。

一般的な順相フラッシュクロマトグラフィーによる分離精製では、シリカを固定相として使用し、炭化水素溶媒（ヘキサン、ヘプタンなど）と酢酸エチルの混合溶媒を移動相として使用します。この条件は多くのアプリケーションで機能しますが、一方で、標準的なシリカでは十分な収率と純度が得られない場合も多くあります。

フラッシュクロマトグラフィーに用いられる標準的なシリカは表面積500m²/g、孔径60Å程度ですが、ピラジン類の分離のように困難なサンプルにおいては分離性能が不十分な場合があります。

このアプリケーションノートでは、表面積700m²/gを超えるBiotage® HP-Sphereシリカ(Biotage® SNAP Ultraカートリッジ)の分離性能を、標準的なシリカカートリッジと比較するため、4種類のピラジン化合物の分離を行いました。

実験

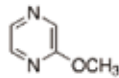
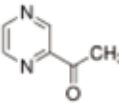
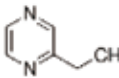
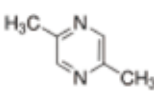
■ サンプル

各化合物50mgをアセトン1mLに溶解(最終濃度200mg/mL)

1. 2-メトキシピラジン
2. 2-アセチルピラジン
3. 2-エチルピラジン
4. 2,5-ジメチルピラジン

■ TLCデータ

溶媒条件: 50%酢酸エチル-ヘキサン

| 化合物 | Rf | |
|--------------|------|---|
| 2-メトキシピラジン | 0.89 |  |
| 2-アセチルピラジン | 0.73 |  |
| 2-エチルピラジン | 0.60 |  |
| 2,5-ジメチルピラジン | 0.42 |  |

■ 精製条件

| | |
|----------|---|
| システム: | Isolera™ Spektra Four(可変波長UV) |
| カートリッジ: | Biotage® SNAP Ultra 10g(Part# FSUL-0442-0010) Biotage® SNAP HP-Sil 10g(Part# FSHP-1207-0010) |
| 溶媒: | 溶媒A: ヘキサン 溶媒B: 酢酸エチル |
| 平衡化: | 12%溶媒B、50mL/min、3CV |
| グラジエント: | 12%溶媒B: 1CV 12%溶媒B-100%溶媒B: 10CV 100%溶媒B: 2CV |
| 流速: | 30mL/min |
| 検出: | λ-AII(ベースライン補正機能使用):200-400nm |
| しきい値: | 100mAU |
| サンプルロード: | 20mg |
| TLC: | Biotage® KP-SIL 10 x 10 cm(Part# TLC-1010-FI) |

■ カートリッジ比較

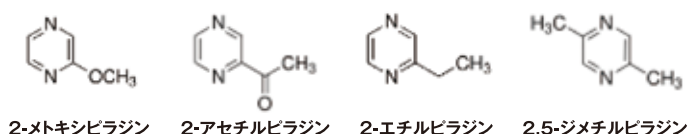
| | Biotage® SNAP HP-Sil | Biotage® SNAP Ultra |
|------------------------|----------------------|---------------------|
| サイズ | 10g | 10g |
| 表面積(m ² /g) | 500 | >700 |
| 孔径(Å) | 60 | 50 |
| 粒子サイズ(μm) | 25 | 25 |

結果と考察

この検討で分離したピラジン化合物(図1)はそれぞれ異なる官能基を持ち、シリカに対する親和性もそれぞれ異なります。TLCデータ(表1)は高Rf値および低 ΔCV 値(選択性)を示し、ピーク間の分解能が低くサンプルロード量を制限することが示唆されました。

しかし理論的に、表面積が大きいシリカであれば、化合物保持とサンプルロード量が向上すると考えられます。標準的な表面積のカートリッジ(Biotage[®] SNAP HP-Sil)と表面積が大きいBiotage[®] SNAP Ultraカートリッジとの比較により、ピラジン類のように分離困難なサンプルにおけるBiotage[®] SNAP Ultraカートリッジの有用性が明らかとなりました(図2、図3)。

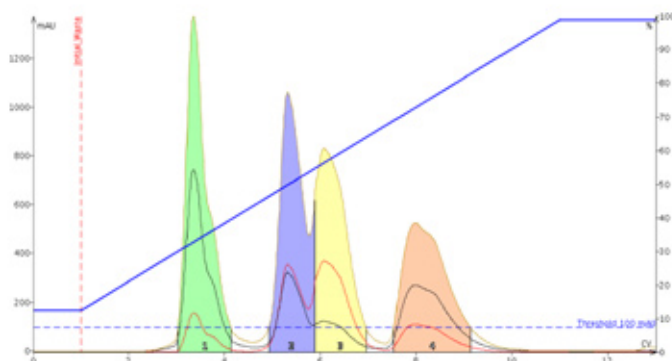
■ 図1 分離したピラジン化合物



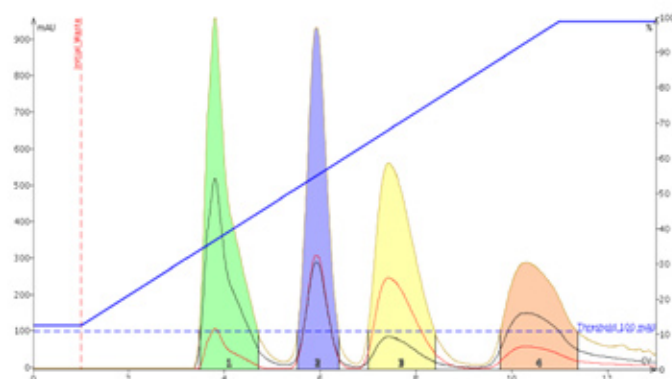
■ 表1 50%酢酸エチル-ヘキサンによるTLCの結果

| 化合物 | Rf | CV | ΔCV |
|--------------|------|------|-------------|
| 2-メトキシピラジン | 0.89 | 1.12 | |
| 2-アセチルピラジン | 0.73 | 1.37 | 0.25 |
| 2-エチルピラジン | 0.60 | 1.67 | 0.30 |
| 2,5-ジメチルピラジン | 0.42 | 2.38 | 0.71 |

■ 図2 Biotage[®] SNAP HP-Silカートリッジ(表面積500m²/g)を使用して4種類のピラジン化合物を分離したクロマトグラム



■ 図3 Biotage[®] SNAP HP-Silカートリッジ(表面積>700m²/g)を使用して4種類のピラジン化合物を分離したクロマトグラム



結論

フラッシュクロマトグラフィーに使用される標準的なシリカ(表面積500m²/g)では分離が不完全な4種類のピラジン化合物は、表面積が700m²/gを超えるBiotage[®] HP-Sphereシリカ(Biotage[®] SNAP Ultraカートリッジ)を使用することで完全に分離することができ、その有用性が示されました。

参考文献

1. Foodreference.com
2. Tobaccodocuments.org

バイオタージ・ジャパン株式会社

本社：〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121
 大阪：〒532-0011 大阪市淀川区西中島7-1-29, 6F TEL 06-6838-9311 FAX 06-6838-9312
 URL: <http://www.biotage.co.jp> E-mail: Japan_info@biotage.com