

## S-ketoprofen enantiomer의 정제를 위한 SMB(Simulated Moving Bed) 크로마토그래피 장치의 모델링

윤태호, 김인호

충남대학교 공과대학 화학공학과 생물공정연구실

전화 (042) 821-7675, FAX (042) 822-8995

### Abstract

We have performed batch chromatography experiments to calculate parameters which are used to design SMB chromatography system. Isotherms of S- and R-ketoprofen enantiomers were gained from small amount loading experiments in a column, and flow rate of four zones of SMB chromatography were calculated using mass balance equations. As a results, diameter and length of columns were 10mm and 600mm, and flow rate of each zone were as follows:  $Q_{Feed}=1.00ml/min$  ,  $Q_{Elu}=2.81ml/min$  ,  $Q_{Ref}=1.81ml/min$  ,  $Q_{Ext}=2.00ml/min$  , and  $Q_{Rec}^{SMB}=10.75ml/min$  . From the Darcy's equation, the pressure drop in whole columns of SMB chromatography was 128bar.

### 서론

천연계에 존재하는 대부분의 생체 구성물질(탄수화물, 아미노산 등)들은 광학적으로 거울상을 가진 광학 이성질체로 존재하고 있으며, 특정 화합물은 생체내에서 서로 다른 역할을 수행한다. 이러한 광학 이성질체를 chiral 화합물이라 하며, 거울상으로 대칭인 구조를 가지고 있으므로, 임의의 방법을 통하여 서로 일치되는 입체구조를 갖도록 할 수 없다<sup>1)</sup>. 이러한 chiral 화합물은 물리적으로 같은 동일한 성질을 갖고 있으므로, chiral 화합물 중의 한가지 enantiomer와 선택성을 갖는 chiral 고정상(CSP)을 이용한 크로마토그래피가 제안되었다<sup>2)</sup>. Chiral 화합물중에 의약품 원료로서 광이성질체의 분리에 대한 관심도가 증가하고 있으며, 범용적이면서도 FDA의 승인을 받아 수년 이내로 산업화가 될 것으로 예상되는 프로펜류 의약품을 대상으로 분리 기술의 발전이 시급한 단계이다<sup>3)</sup>.

본 연구에서는 실험실 규모의 SMB 크로마토그래피 장치를 디자인하기 위하여 분석용 칼럼을 통해 여러 가지 파라미터들을 구한 후, SMB 크로마토그래피 장치의 설계변수를 계산하였다.

### 이론

Fig. 1은 SMB 크로마토그래피의 원리를 나타내고 있으며, 흡착제를 실제로 이동시키지 않고 칼럼에 연결된 밸브의 흐름을 이동상의 흐름방향과 같이 주기적으로 바꾸어 이동층 크로마토그래피와 같은 효과를 나타낼 수 있다. SMB 크로마토그래피를 조작하는데 요구되는 모든 매개변수들은 회분식 크로마토그래피를 통해서 얻어

지며, 이와같은 방법으로 얻어진 값을 이용하여 SMB 크로마토그래피가 정상상태로 조작되도록 최적의 조건을 맞추는 것이 중요하다<sup>4)</sup>. SMB 크로마토그래피의 모델링은 단일 칼럼에 적용되는 dynamic model로부터 유도되어지며, 칼럼의 이론단 수  $N$ 은  $16 \cdot (t_g/t_H)^2$  으로 계산하고 칼럼에 소량의 시료를 주입하는 경우 등온흡착곡선의 초기 기울기  $K$ 는 다음과 같은 식으로부터 구할 수 있다.

$$t_g = t_0 \cdot \left(1 + \frac{1-\epsilon}{\epsilon} \cdot K\right) \quad (1)$$

이때,  $t_0 = \frac{\epsilon \cdot L}{Q}$  이다.

SMB의 각 부분으로 유입되는 이동상과 시료, 배출되는 raffinate(A), extract(B)의 유속은 Fig. 2에 나타낸 TMB(true moving bed) 크로마토그래피의 입구와 출구에서 물질 수지식으로부터 계산되며 다음과 같다<sup>5)</sup>.

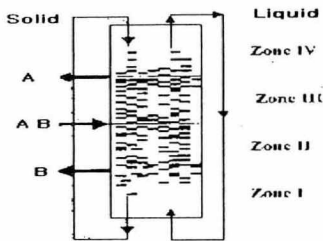


Fig. 2. Schematic diagram of TMB.

Table 1. Internal flow rate in TMB.

Zone	Physical constant	Mathematical expression
I	B must move upward	$\frac{Q_I}{M \cdot K_B} > 1$
II	A must move upward	$\frac{Q_{II}}{M \cdot K_A} > 1$
III	B must move downward	$\frac{Q_{III}}{M \cdot K_B} < 1$
IV	A must move downward	$\frac{Q_{IV}}{M \cdot K_A} < 1$

Table 1의  $M$ 은 TMB에서 고정상의 순환속도이며, Fig. 2에서 하강하는 성분의 flux인  $F_d = M \cdot C$  이고, 상승하는 성분 flux인  $F_u = Q \cdot C$  가 되고, 이때  $C$ 는 고정상 중의 성분 농도,  $C$ 는 이동상 중의 농도이다. 또한, Van-Deemter식을 이용하여 이론단 높이를 계산할 수 있으며, 각 칼럼에서 발생하는 압력강하는 Darcy 식으로부터 구할 수 있으며 다음과 같다.

$$1/H = \frac{N}{L} = \frac{1}{a+b} \cdot \frac{1}{u} \quad , \quad a = A \cdot d_p, \quad b = B \cdot d_p^2 \quad , \quad \text{이때 } A = 2 \sim 3 \quad (2)$$

$$\frac{\Delta P}{L} = h_k \cdot \frac{36}{d_p^2} \cdot \left(\frac{1-\epsilon}{\epsilon}\right)^2 \cdot \mu \cdot u \quad (3)$$

이때,  $L$ 은 칼럼의 길이,  $h_k$ 는 Kozeny 상수로 약 4.5,  $d_p$ 는 입자의 직경,  $\mu$ 는 이동상의 점도,  $u$ 는 이동상의 공탑속도이다.

### 재료 및 방법

본 연구에 사용된 대상 물질은 비스테이로이드계의 소염제로 널리 사용되는 R-

S-ketoprofen([(+)-(R,S)-3-benzoyl- $\alpha$ -methylbenzenacetic acid])이었으며, 라세미 혼합물 형태로 국전시약에서 구입하였다. 이동상은 60/40/0.1(v/v%)의 hexane/tert-butyl methyl ether/acetic acid를 사용하였으며, 고정상은 0,0-bis(4-tert-butylbenzoyl)-N,N'-diallyl-L-tartar diamid가 결합된 Kromasil CIH-11(Eka Chem., Sweden)를 사용하였다.

### 실험 및 계산결과

분석용 칼럼에 1mg/ml의 ketoprofen racemate를 20 $\mu$ l 주입하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었으며, 이로부터 얻어진 계산결과를 Table 2에 나열하였다.

Table 2. Obtained values from batch chromatography experiment.

Parameter	Values
Density of packing material	2.2g/ml
Particle diameter	10 $\mu$ m
Column volume	4.2ml
Void fraction of column	0.6
Retention time	$t_S=8.3$ min, $t_R=9.6$ min, $t_0=2.5$ min
Initial slope of adsorption isotherm	from Eq.(1) $\bar{K}_S=3.5$ , $\bar{K}_R=4.3$
Viscosity of mobile phase	0.2cP
Theoretical plate number	$N_S=1722$ , $N_R=2304$
superficial velocity	6.02cm/sec

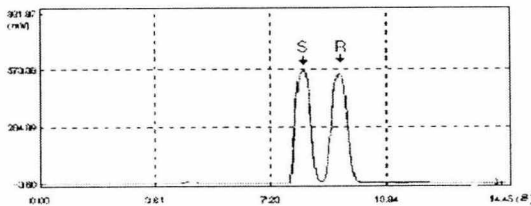


Fig. 3. Chromatogram of ketoprofen racemate; sample concentration=1.0mg/ml, flow rate=1.0ml/min, loading amount=20 $\mu$ l, temperature=40 $^{\circ}$ C.

Table 2로부터

$$\frac{Q_i}{M \cdot \bar{K}_R} = \beta \quad \frac{Q_{II}}{M \cdot \bar{K}_R} = \beta$$

$$\frac{Q_{III}}{M \cdot \bar{K}_S} = 1/\beta \quad \frac{Q_{I1}}{M \cdot \bar{K}_S} = 1/\beta$$

이때  $\beta > 1$ 이며, 칼럼내에서의 정상상태 물질수직식으로부터 정리하면, 다음의 식으로부터 SMB 크로마토그래피의 각 zone에서 유속을 계산할 수

있다.

$$M = \frac{Q_c}{\bar{K}_R/\beta - \bar{K}_S - \beta} \quad Q_{REV}^{TMB} = Q_i^{TMB} = \beta \cdot M \cdot \bar{K}_R \quad (4)$$

$$Q_{EV} = M \cdot (\bar{K}_S - \bar{K}_S) / \beta \quad Q_{REV} = M \cdot (\bar{K}_R - \bar{K}_S) / \beta$$

Feed의 공급속도  $Q_{Feed}$ 를 1.0ml/min,  $\beta$ 를 1.05로 하고, Eq. (4)를 사용하여 계산한 결과는

$$Q_{REV}^{TMB} = 10.75 \text{ ml/min}, \quad Q_{EV} = 2.00 \text{ ml/min}, \quad Q_{REV} = 1.81 \text{ ml/min}$$

$$Q_{REV} = 2.81 \text{ ml/min} \quad \text{였다. 그러나, SMB 크로마토그래피의 switching time을 고려}$$

하면,  $Q_{rec}^{SMB} = Q_{rec}^{TMB} + \frac{\epsilon}{(1-\epsilon)} M = 12.25\text{ml/min}$  이고, switching time

$$\Delta t = (1-\epsilon) \cdot V_{col}/M = 0.71\text{min}$$
 이다.

Eq.(2)와 Eq.(3)을 이용하여 칼럼의 길이에 대한 이론단수인

$$\frac{N_{theor}}{L} = \frac{1}{2 \times 10^{-8} + 2.08 \times 10^{-8} u_r} \text{ plate/cm}$$
 과 압력강하  $\frac{\Delta P}{L} = 0.14 u_m \text{ bar/cm}$  를 구

할 수 있으며, 이때 이동상의 평균속도는 앞에서 recycle rate  $Q_{rec}^{SMB}$  가 12.25ml/min 일 때  $u_m$ 은 칼럼 내경 10mm를 기준으로 하여 15.51cm/sec로 계산되었다. 따라서, 이와같은 경우 분리에 필요한 총 칼럼의 길이는 59cm로 내경 10mm, 길이 15cm의 칼럼 4개가 요구되며,  $\Delta P$ 는 128bar로 계산되었다.

### 결론

분석용 HPLC 칼럼을 이용하여 회분식 실험을 수행한 후, SMB 크로마토그래피 장치를 설계하기 위한 기본 변수들을 계산하기 위하여 TMB 크로마토그래피를 모델링하였다. SMB 크로마토그래피의 칼럼 길이는 S-, R-ketoprofen의 체류시간으로부터 계산되어졌으며, 정상상태 조작이 가능하도록 내경이 10mm인 칼럼을 사용할 경우, 길이 15cm인 칼럼 4개가 필요하며, 이 경우 각 port에서의 유량은  $Q_{Feed} = 1.00\text{ml/min}$ ,  $Q_{Elu} = 2.81\text{ml/min}$ ,  $Q_{Str} = 1.81\text{ml/min}$ ,  $Q_{Ext} = 2.00\text{ml/min}$ ,  $Q_{rec}^{TMB} = 10.75\text{ml/min}$  로 계산 되었다.

### 감사

본 연구는 인하대 초정밀생물분리기술 연구센터의 지원에 의해 연구가 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Krstulovic, A. M., Chiral separation by HPLC, Application to phama- ceutical compounds, (1989), Cp.11, Ellis Horwood Ltd., Chichester.
2. Francotte, E. R. and P. Richert, Applications of simulated moving-bed chromatography to the separation of the enantiomer of chiral drugs, (1997), *J. Chromatogr. A*, **769**, 101-107.
3. Stinson, S. C. Chrial drug interaction, (1999), *C&EN*, **11**, 101-120.
4. Dunnebier, G. and K. U. Klatt, Modelling and simulation of nonlinear chromatographic separation process: a comparison of different modelling approaches, (2000), *Chem. Eng. Sci.*, **55**, 373-380.
5. Nicoud, R. M., Simulated moving bed(S. M. B) in preparative chromatography: basic, limitations and use, Simulated moving bed: Basic and applications, (1993), *European meeting*, Nancy, 54-64.