

초임계유체 크로마토그래피를 이용한 Ibuprofen의 키랄분리

한 순 구 · † 노 경 호

초정밀생물분리기술연구센터, 인하대학교, 화학공학과
(접수 : 2004. 3. 11., 게재승인 : 2004. 8. 26.)

Chiral Separation of Ibuprofen by Supercritical Fluid Chromatography

Soon Koo Han and Kyung Ho Row†

Center for Advanced Bioseparation Technology, Inha University, Dept. of Chemical Engineering,
253 Yonghyun-Dong, Nam-Ku, Incheon 402-751, Korea
(Received : 2004. 3. 11., Accepted : 2004. 8. 26.)

The separation method using chiral stationary phase in preparation of chiral compound was widely used, but in this work, supercritical fluid chromatography was suggested in the stability to resolve the chiral mixtures. To determine the optimum operating condition of the racemic ibuprofen, the retention factor and resolution with change in pressures, temperatures and the contents of IPA % (vol.) in CO₂ were investigated. The retention factor was decreased with increase in pressure and decrease in temperature. The factor was also influenced by the content of IPA in mobile phase, while the resolution was worse with a increase in IPA %. From the experimental results, the desirable separation condition was 130 bar, 311.15 K and 4% IPA in CO₂. Compared to the asymmetric peak shape by liquid chromatography, that of supercritical fluid chromatography was symmetric which was a favorable condition for preparative separation.

Key Words : SFC, ibuprofen, chiral separation, resolution, retention factor

서 론

광학이성질체는 enantiomer 또는 키랄화합물이라 불리며, 동일한 분자식과 구조식을 가지고 있지만, 입체 구조상 서로 거울상의 대칭구조를 이루는 화합물을 말한다(1). 물리적인 성질이 모두 동일하지만, 서로 대칭되는 광학 굴절률을 가지고 있어 인체 내에서 다른 약리활성을 보이고 있다. 광학이성질체 중 하나의 형태만이 약리활성을 보이고, 다른 하나는 독성물질로 작용하거나 부작용을 일으키고, 약리활성을 저해하는 역할을 한다(2). 이러한 이유로 1999년 미 식품의약청 (US FDA)에서는 기존에 판매되고 있는 광학이성질체 의약품 중 약리활성을 보이는 성분만을 분리 및 정제하여 고순도로 제조한 것에 대해서도 신약 허가해 줌으로써(3) 더욱 더 관심이 증가하고 있다.

현재 고순도의 광학이성질체를 제조하는 방법으로는 비대

칭적인 합성과 분리를 사용하고 있다. 하지만, 합성을 통해 고순도로 제조하는 것이 어렵기 때문에 크로마토그래피를 이용하여 고순도로 분리하는 방법이 널리 사용되고 있다. 크로마토그래피를 이용한 분리에는 키랄선택자를 결합한 키랄고정상(CSP)을 이용하는 직접분리방법과 시료에 전처리하여 일반적인 고정상에서 분리하는 간접분리방법이 있다(1). 전자의 경우 고정상이 고가인 단점이 있지만, 분리 후에 바로 회수하여 제품을 만들 수 있는 장점이 있다. 반면 후자의 경우 고정상의 가격이 키랄고정상에 비해 저렴하지만, 시료의 전처리 시간과 분리 후에 다시 제거해야 하는 단점이 있다.

크로마토그래피를 이용하여 분리하는 방법을 사용할 경우 대부분 독성이 있는 유기용매를 이동상으로 사용하기 때문에 이후 유기용매를 휘발시켜 순수성분을 제조해야 하는 단점이 있다. 또한 유기용매를 휘발하여도 소량 잔존하게 되어 의약품으로 제조시 안정성에 문제점이 발생하게 된다. 이러한 대안으로 최근 초임계유체를 사용한 키랄분리에 대한 연구가 진행되고 있다. 초임계유체를 크로마토그래피의 이동상으로 사용하는 것을 처음 제안한 사람은 Lovelock(1958)이다. Klesper는 초임계 클로로플루오로 메탄을 이동상으로 하여 니켈 포피린을 분리하는 데 있어서 초임계유체 크로마토그래피를 사용할 것을 제안하였다(4).

† Corresponding Author : Center for Advanced Bioseparation Technology, Inha University, 253 Yonghyun-Dong, Nam-Ku, Incheon 402-751, Korea,
Tel : +82-32-860-7470, Fax : +82-32-872-0959
E-mail : rowkho@inha.ac.kr

초임계유체는 임계온도와 임계압력과 같은 임계값 이상의 상태에서 존재하는 유체를 말하며, 임계값 이상에서 유체는 기상과 액상에서 분리되어 있던 상이 하나의 상으로 변하게 된다. 이 때, 기상의 낮은 점도와 액상의 높은 물질전달 계수의 장점을 동시에 가지게 된다. 이러한 이유로 추출 및 여러 공정에서 새로운 대안으로 최근 부각되고 있다. 초임계유체에 주로 사용되는 이산화탄소 ($T_c \approx 304 \text{ K}$, $P_c \approx 73 \text{ bar}$)의 경우 값이 싸고, 인체에 무해하며, 재생력이 우수하고 환경친화적이며 분리 후 쉽게 회수할 수 있는 장점이 있다(5). 기존에 사용되던 기체 크로마토그래피나 액체크로마토그래피에 사용된 컬럼(6)과 검지기를 그대로 사용할 수 있고(7), 압력과 온도를 이용하여 밀도를 변화시켜 용매세기를 조절할 수 있다(8). 초임계 이산화탄소는 비극성 물질은 쉽게 녹지만 극성의 물질은 용해도가 떨어져 유기 용매를 첨가하여 극성 물질의 용해도를 증가시켜 사용하며(9), 초임계유체를 이용한 키랄분리의 장점에는 HPLC의 동일한 조건에서 분리능이 우수한 경우가 있다는 것이다(10).

본 연구에서 사용한 키랄물질인 *ibuprofen*은 대표적인 비스테로이드 계통의 진통 및 소염제로서 사용되어지며, 류마티즘, 암 등의 진통제외에 여러 가지 용도로 널리 사용되는 치료약이고, 라세미 혼합물 상태로 사용되고 있다(11). *S(+)-ibuprofen*만이 약리활성을 보이고, *R(-)-ibuprofen*의 경우 피부 침투능력을 저해하는 하는 등의 부작용을 보인다. 초임계 상태에서의 온도와 압력, 첨가제인 IPA의 양에 따라 *ibuprofen* 키랄혼합물의 분리시간과 분리도를 비교하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 *R, S - ibuprofen*[(±)-(*R, S*)-2-(4-isobutyl phenyl) propionic acid] (Fig. 1)는 삼일제약에서 제공받았다. 유기첨가제로 사용된 HPLC용 IPA (isopropanol)는 J.T.Barker (USA)에서 구입하여 사용하였다. 컬럼은 3.9 x 150 mm 스테인레스 컬럼에 키랄선택물질이 결합되어 있는 *Kromasil® CHI-TBB* (Eka Chemical, Sweden)를 구입하여 충전한 후 사용하였다. 펌프의 냉각을 위해 사용된 냉매는 2차 증류한 물과 순도 99%이상의 공업용 메탄올 (Duksan, Korea)을 구입하여 50/50 (vol. fraction)으로 혼합하여 사용하였다. 컬럼을 일정한 온도로 유지하기 위하여 설치한 항온조에 사용된 물은 2차 증류하여 사용하였으며, 이동상으로 사용한 이산화탄소는 순도 99%이상으로 액화된 것을 사용하였다.

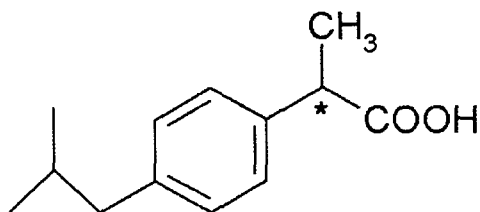


Figure 1. Chemical structure of racemic *ibuprofen* (* : chiral center).

실험기기 및 실험방법

본 연구에 사용되어진 초임계유체 크로마토그래피 장치는 Fig. 2와 같으며, 펌프 (M930 solvent delivery pump, 영린기기), 486 검지기 (M 720 Absorbance detector, 영인과학), Reodyne injection valve (20 ml sample loop)로 구성되어 있다. 데이터 저장 시스템은 Autochrowin (Ver. 2.0 puls, 영린기기)을 PC에 설치하여 사용하였다. 이산화탄소를 펌프 내부에서 액화된 상태로 유지하기 위하여 자체 제작한 자켓을 부착하여 펌프헤드를 냉각시켰다. 자켓은 냉각 순환장치 (RBC-11, JEIO Tech.)와 연결하였고, 냉각 순환장치에서 냉각된 냉매를 순환시켜 냉각하였다. 컬럼과 튜빙 내부의 고압을 유지하기 위하여 검출기 out line에 back pressure regulator (6000 psi, TESCOM)를 연결하였고, 검지기에서 나오는 라인에 압력 게이지 (model 01-0162-F, Millpore)를 연결하여 압력을 측정하였다. 컬럼과 튜빙의 온도를 일정하게 유지하기 위하여 항온조에 넣고 사용하였다.

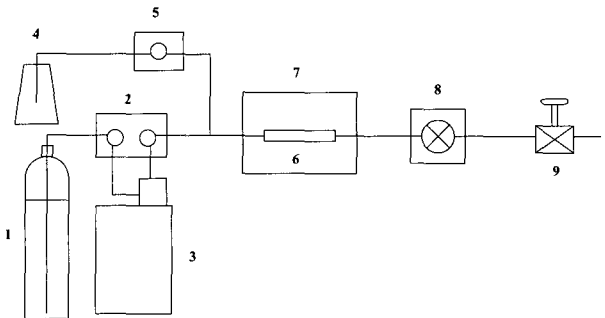


Figure 2. Schematic diagram of supercritical fluid chromatography used in this study (1 : CO₂ gas cylinder, 2 : HPLC pump, 3 : cooling circulator, 4 : organic modifier reservoir, 5 : HPLC pump, 6 : column, 7 : thermostat, 8 : UV detector, 9 : back pressure regulator).

Racemic *ibuprofen*을 농도가 10 mg/ml가 되도록 IPA에 녹여 시료를 준비하였다. 유기첨가제인 IPA를 3-10 % (vol. fraction) 범위에서 변화시켰으며, 압력은 100 bar에서 130 bar 까지 10 bar씩 압력을 증가시켰다. 컬럼과 튜빙의 온도는 38 - 48℃까지 2℃씩 변화시켜 크로마토그램을 얻었다. 이 때 시료의 주입부피는 0.005 ml로 고정하였으며, 유속은 1 ml/min으로 고정하였다. UV의 wavelength는 220 nm으로 고정하였다.

결과 및 고찰

크로마토그래피를 이용한 분리에서 주요하게 고려하여야 할 사항은 분리도와 체류시간이다. 분리도와 체류시간은 크로마토그래피 컬럼의 길이나 내경과 같은 장비와 주입부피, 주입농도 같은 실험방법에 따라 변화하게 된다. 분리하고자 하는 물질을 여러 조건에 따라 실험을 수행하고 분리도와 체류시간을 고려하여 최적의 분석 및 분리 조건을 설정해야 한다. 일반적으로 컬럼의 길이나 내경은 분리물질이나 목적에 따라 쉽게 결정되어 지는데 비해서, 최적조건에서 가장 선행되어야 할 것은 이동상을 구성하는 용매를 선정하고 조성을 결정

하는 것이다.

본 실험에서 최적의 분리조건을 결정하는데 사용한 판단조건은 각 조건에서의 체류인자와 분리도를 이용하였다. 일반적으로 분리시간은 체류인자를 통해 정해지며, 체류인자는 체류시간과 무용시간의 관계식으로 식 (1)과 같이 표시할 수 있다.

$$k = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (1)$$

여기서, t_0 는 컬럼 내에 머무르지 않는 물질의 체류시간인 무용시간 (dead time)을 나타내며, t_R 는 시료의 체류시간을 나타낸다. k 는 체류인자를 나타내며, k 값이 작을수록 물질의 체류시간은 짧은 것을 의미한다. 분리도 (R)는 두 피크의 체류시간과 피크의 평균 폭으로 정의되며, 식 (2)와 같이 나타낸다.

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{(w_2 + w_1)/2} = \frac{2 \Delta t}{w_2 + w_1} \quad (2)$$

t_{R1} 는 체류시간이 상대적으로 짧은 R-enantiomer를 나타내고, t_{R2} 는 S-enantiomer를 나타내며, w_1, w_2 는 각 성분의 피크의 기준선에서의 폭이다.

이동상의 조성에 따른 체류인자

크로마토그래피에서는 컬럼 내 이동상과 고정상에서의 체류시간이 물질마다 차이가 있기 때문에 분리가 가능하다. 이 체류시간은 통상적으로 컬럼의 무용부피 (dead volume)를 고려하여 체류인자로 표시한다. 체류인자를 알기 위해서는 먼저 선행되어야 할 것이 컬럼의 무용부피를 구해야 한다. 본 연구에서 사용한 충전제는 극성인 실리카로 되어 있어 비극성인 헥산 0.020 ml를 주입하여 체류시간을 알아보았다. 이 때 헥산의 체류시간은 1.65분이었다. 온도와 압력 및 첨가제인 IPA의 양에 따라 용출된 크로마토그램을 통해 체류시간을 측정 후 체류인자를 식 (1)을 통해 구했다.

크로마토그래피 컬럼에 충전된 고정상과 이동상의 서로 반대의 극성을 가지게 되며 시료와 고정상간의 상호작용을 일어나며, 이러한 상호작용의 차이로 인해 주입된 시료내의 물질간에 체류시간이 다르게 되어, 분석 및 분리가 진행되어진다. 하지만 시료와 고정상간의 상호작용이 강한 경우 체류시간이 길어지고 피크의 tailing이 생기게 된다. 따라서 이 경우 체류시간과 피크의 tailing을 줄이기 위해 이동상에 첨가제를 넣어주게 된다. 본 연구에서 사용된 키랄 고정상을 이용한 키랄물질의 분리는 키랄선택자와 그 주변의 비대칭적인 구조로 통해 이루어진다. 키랄물질과 키랄선택자 간에는 주로 π - π 결합이나 수소결합등과 같은 상호작용에 기인하여 체류시간에 영향을 미치게 되고, 키랄물질의 구조적 상이성에 의해 서로 다른 체류시간을 가지게 된다. 따라서, 비극성인 초임계 상태의 이산화탄소를 이동상을 사용하게 되면 상대적으로 극성이 높은 시료가 고정상간의 상호작용이 강하여 쉽게 컬럼 밖으로 용출되지 않는다. 따라서 이동상에 극성이 있는 유기첨가제인 IPA가 주입하여 고정상과 이동상의 상호작용이

상대적으로 증가시켜 시료와 고정상간의 상호작용과 경쟁하도록 하였다. 2% IPA (vol.) 이하의 경우 피크가 분리시간을 1시간으로 하였으나, 피크가 검출되지 않았다. 하지만 IPA의 첨가량을 3% 이상으로 하였을 때, 피크가 검출되기 시작하였다. IPA를 3%부터 1%씩 점차 증가하였을 때 10%를 초과하였을 때 검지기 감도 한계 이상으로 피크 높이가 검출되어, 정확한 체류시간을 알 수 없었다. 따라서 IPA의 첨가 범위를 3 - 10 %로 하여 시료를 주입하고 이 때 Fig. 3과 같은 크로마토그램을 얻었다. 이를 통해 체류시간을 구한 후 식 (1)을 통해 체류인자를 구하였다.

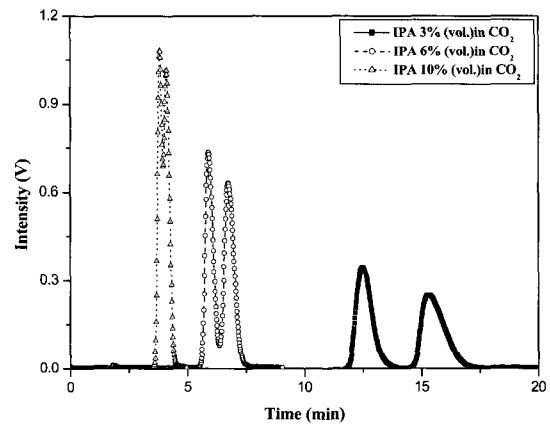


Figure 3. Chromatogram of racemic ibuprofen within containing percent of organic modifier (311.15K, 100bar).

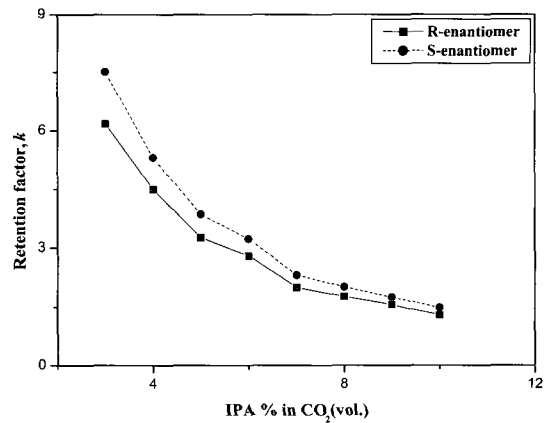


Figure 4. Effect of retention factor within containing percent of organic modifier (313.15 K, 100bar).

Fig. 4에서는 온도를 313.15K, 압력은 100 bar로 고정하였을 때, 유기첨가제인 IPA의 첨가량의 변화에 따른 체류인자의 영향을 보여주고 있다. 유기첨가제인 IPA의 양이 증가할수록 점차 체류인자가 급격하게 감소하는 것을 볼 수 있다. 이는 키랄고정상에 결합되어 있는 키랄선택자와 첨가된 IPA의 결합력이 주입된 시료보다 세기 때문이다. 컬럼에 주입된 시료보다 상대적으로 고정상간의 상호작용이 큰 IPA가 주입되면, 고정상과 시료간의 상호작용이 인해 쉽게 떨어져 짧은

시간안에 컬럼 밖으로 용출되어진 것이다. 이로 인해 점차 체류시간이 감소하면서 체류인자 값이 점차 감소하는 경향을 보이고, R-enantiomer와 S-enantiomer를 비교하였을 때 IPA의 양이 증가할수록 S-enantiomer의 체류시간의 감소폭이 커져, R-enantiomer와 S-enantiomer의 체류시간의 차가 점차 감소하는 것을 알 수 있었다.

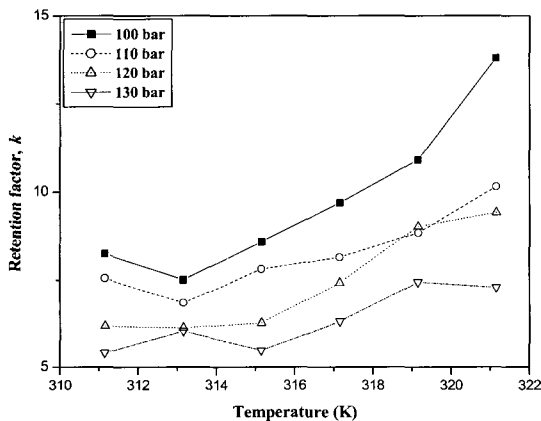
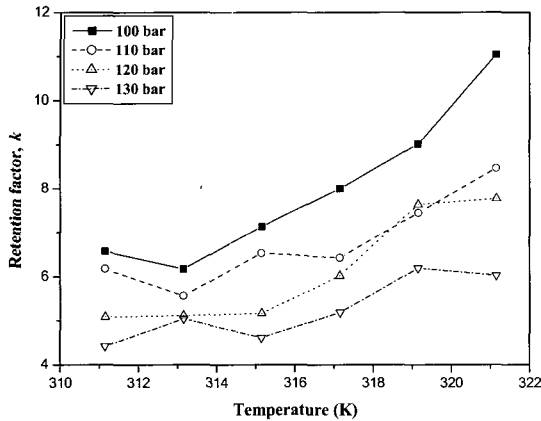


Figure 5. Effect of retention factor within pressure and temperature at 3 % IPA (vol.). (a) R-enantiomer, (b) S-enantiomer.

액상이나 기상에서의 이산화탄소의 밀도는 균일한 값을 가지지만, 초임계 상태에서는 이산화탄소나 혼합된 분자에 이산화탄소 분자가 물리는 분자회합 (molecular association)이 일어나며, 분자회합이 일어난 부분에서 국부적으로 높은 밀도 값을 가지게 되며 온도와 압력에 따라 변화하게 된다. 이러한 특성으로 인해 초임계 상태의 이산화탄소는 고정상에 있는 공극에 쉽게 침투할 수 있으며, 밀도에 따라 다른 용해도를 가지게 된다. Fig. 5에서는 3% IPA (vol.)로 고정하고 압력과 온도를 변화시켜 밀도를 조절하였을 때, R(a), S(b)-enantiomer의 체류인자 변화를 나타내고 있다. 온도가 낮고 압력이 높을수록 체류인자는 감소하는 경향을 보였다. 초임계 상태에서 이산화탄소의 밀도는 기체 방정식과 동일한 경향을 가지고 있어, 압력이 증가하고 온도가 감소할수록 밀도는 증가한다. 따라서, 온도가 311.15 K이고 압력이 130 bar 일 때 가장 높은 밀도를 가지게 된다. 또한 Takahashi's rule

에 의하면 압력이 감소할수록 초임계 상태의 이산화탄소의 물질의 확산속도는 증가하게 된다. 이로 인해 국부적으로 이동상에 포함되어 있는 IPA와 시료의 농도가 고농도로 존재하게 될 것이다. 이로 인해 고정상 표면에서 이동상의 IPA와 시료 간에 고정상과의 상호작용이 서로 경쟁하게 된다. 상대적으로 고정상과 상호작용이 큰 IPA로 인해 흡착된 시료는 쉽게 탈착이 진행되어 컬럼 내에서 머무르는 시간이 감소하게 된다. 따라서 온도가 감소하고 압력이 증가할수록 체류인자는 감소하는 경향을 보이는 것이다. 반대로 낮은 압력, 높은 온도에서는 확산속도로 주입된 시료가 이동상에 쉽게 확산될 수 있고, 시료와 이동상에 포함된 IPA도 초임계 상태의 이산화탄소에 확산되어 비교적 균일하게 분포되어 국부적으로 낮은 밀도를 가지게 될 것으로 생각된다. 이로 인해 고정상 표면에 시료가 쉽게 흡착할 수 있고, 첨가된 IPA의 양이 작을 경우에는 고정상과 상대적으로 평형상태를 이루는 데 시간이 증가하게 되어 흡착된 시료를 쉽게 탈착시킬 수 없게 되어 컬럼 내에 시료의 체류시간이 증가하지만, IPA의 첨가량이 증가할수록 고정상 표면에 흡착된 시료를 쉽게 탈착시킬 수 있어 Fig. 4에서 보는 것과 같이 체류시간은 점차 감소하는 경향을 보였다.

이동상의 조성에 따른 분리도

분리도는 식 (2)와 같이 두 시료간의 체류시간과 피크의 폭간의 관계로 정의할 수 있다. 피크의 폭은 컬럼의 효율과 관계있고, 체류시간은 체류인자와 서로 상관관계가 있다. 피크의 폭이 넓다는 것은 컬럼 내에서 체류시간이 길어져 피크의 tailing이 발생한 것이다. 이는 고정상과 시료간의 상호작용이 고정상 표면에서 강하게 일어나기 때문이다. 짧은 체류시간을 가지고 있다 하여도 피크의 폭이 넓으면 상대적으로 분석 및 분리시간이 증가하게 되고 분리시에도 순도를 감소시킬 수 있다. 따라서 분리하고자 하는 물질간의 체류시간의 차뿐만 아니라 피크의 폭도 고려하여 이동상의 조건을 결정해야 한다. 이러한 이유로 크로마토그래피를 이용한 분석 및 분리공정의 최적조건을 결정하는데 있어서 분리도는 주요하게 고려되어야 한다. 일반적으로 크로마토그래피에서 유속과 컬럼의 길이, 주입량이 고정되었을 때, 분리도는 이동상의 조성에 따라 영향을 받는다. 액체 크로마토그래피의 경우 고정상의 표면의 극성과 시료의 극성, 이동상의 극성에 기인한 상호작용에 따라 체류시간의 증감뿐만 아니라 피크의 폭에 영향을 주어 분리도도 영향을 주게 된다. 이 경우 이동상에 첨가제를 넣어주거나 조성을 변화시켜 적절한 분리도를 가지게 할 수 있다.

체류인자를 구할 때와 동일하게 이산화탄소의 압력과 온도, 첨가되는 IPA의 양을 조절하여 크로마토그램을 얻었다. 각 피크의 중간높이와 접점을 가지는 접선을 그어 피크의 기준선과 만나는 점을 구하여 피크의 폭을 구하였다. 구해진 피크의 폭과 체류시간을 식 (2)으로 계산하여 각 조건에서의 분리도를 구하였다.

Fig. 6는 일정한 온도, 압력 하에서 첨가되는 IPA의 양에 따른 분리도의 영향을 보여주고 있다. IPA의 양이 증가함에 따라 점차 분리도가 크게 감소하는 것을 알 수 있었다. Fig. 3에서 보는 것과 같이 IPA의 첨가량이 증가할수록 인접하고

있는 R, S-enantiomer간의 체류시간 차이가 감소하여 피크가 점차 겹치는 것을 알 수 있었다. 또한 시료보다 고정상과의 상호작용이 강한 IPA의 증가하여 이로 인해 컬럼내의 시료의 체류시간이 전체적으로 감소하여 대칭적인 피크의 형태를 띠게 된다. 하지만, 체류시간의 감소보다 상대적으로 피크 폭의 감소가 작아 분리도가 감소하게 된 것이다.

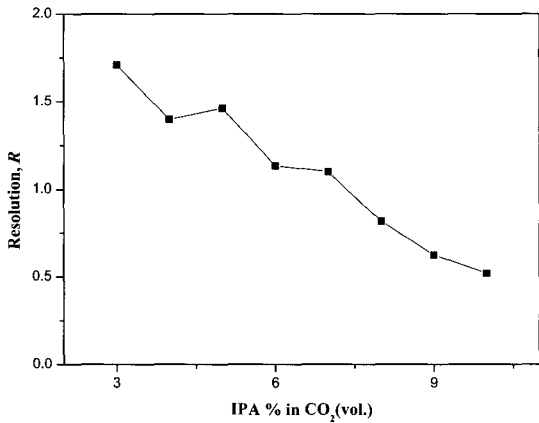


Figure 6. Effect of resolution within containing percent of organic modifier (311.15K, 100 bar).

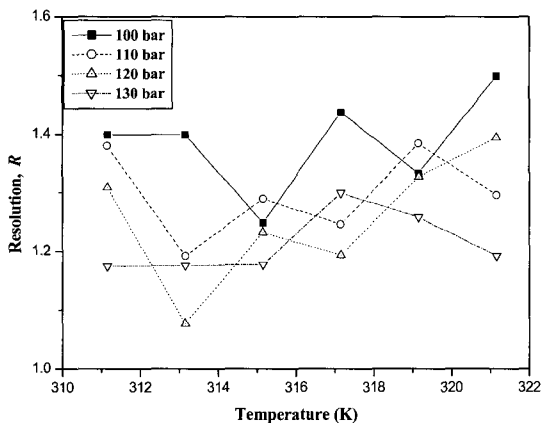


Figure 7. Effect of resolution within pressure and temperature at 4% IPA (vol.).

첨가된 IPA의 양이 동일한 경우 이산화탄소의 밀도가 높을수록 피크의 형태는 대칭적인 모양을 가지게 되어 피크의 폭은 감소하지만 이에 따라 체류시간 역시 감소하게 된다. Fig. 7은 IPA의 첨가량을 일정하게 유지하였을 때, 온도와 압력에 따른 분리도의 영향을 보여주는 것으로 초임계 이산화탄소의 밀도가 증가할수록 분리도는 점차 감소하는 경향을 보이고 있다. 이는 이산화탄소의 밀도에 의한 체류시간의 감소가 상대적으로 피크의 폭의 감소보다 크다는 것을 의미한다. 이산화탄소의 국부적으로 높은 밀도로 인해 앞서 체류인자와 같은 이유로 체류시간이 감소하고 대칭적인 피크의 모양을 가져 피크의 폭이 감소하였지만, 체류시간의 경우 3분 정도 감소한 반면 피크의 폭은 0.4분 정도 감소하였다. 이로 인해 분리도는 감소하게 된 것이다.

최적의 이동상 조성과 액체 크로마토그래피와의 비교

분리도가 1.2인 경우 기준선을 기준으로 인접하는 두 피크는 완전 분리가 되었다고 할 수 있으며, 이 때 고순도 및 고수율로 분리할 수 있다. 본 연구에서는 분리도를 1.1에서 1.3사이로 기준을 설정하였다. 이 때 체류시간이 가장 짧은 조건으로 이동상의 조건으로 결정하였다. 분리도와 체류인자를 고려하여 최적의 분리조건은 온도가 311.15K이고, 압력이 130 bar에서 IPA의 첨가량이 4%이었다.

액체 크로마토그래피를 이용하였을 때와 최적의 분리조건에서의 초임계 크로마토그래피와 비교하였다. 액체 크로마토그래피의 경우 이동상의 조건은 n-hexane/tert-butyl methyl ether/acetic acid = 75/25/0.1 (vol.%)이었고, UV wavelength는 254 nm이었다. 초임계유체 크로마토그래피에서와 동일한 UV wavelength를 사용하려 하였으나 이동상에 의한 cut-off로 인하여 시료의 피크가 검출되지 않았다. 또한, 초임계유체 크로마토그래피의 경우 UV wavelength가 254 nm에서 피크가 제대로 검출되지 않아서 220 nm에서 검지하였다. 초임계유체 크로마토그래피에서 사용한 동일한 농도로 IPA에 ibuprofen를 용해하여 준비하였으며, 주입량과 이동상의 유속 등 실험 조건을 동일하게 하였다. 서로 다른 검지 조건으로 인해서 UV 강도로 인한 보정하기 위해서 농도에 관한 용출곡선으로 바꾸었다.

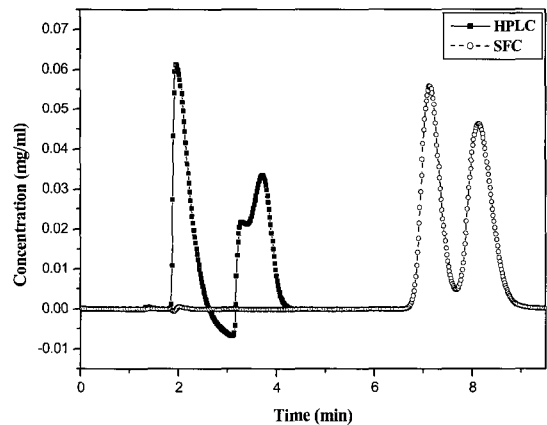


Figure 8. Concentration profiles of HPLC and SFC.

Fig. 8에서 보는 것과 같이 액체 크로마토그래피를 기준으로 전체적인 분리시간이 초임계크로마토그래피와 비교하여 짧았고 비선형의 비대칭 용출곡선으로 나왔다. 그러나 초임계 크로마토그래피의 경우 용출시간이 4분 정도 증가하였지만, 선형의 대칭 용출곡선을 얻을 수 있었다. 액체 크로마토그래피에서 3분경에 나온 음피크는 시료를 녹이는 데 사용한 IPA에 의해 발생한 것으로 IPA만을 주입하였을 때 3분경에 음피크를 통해 확인할 수 있었다. 동일한 농도에서 액체 크로마토그래피로 연속식 분리가 가능한 모사이동층을 적용할 경우는 최적조건을 설정하는데 있어서 쉽고 빠르게 결정할 수 있으며, 더 높은 농도에서 조업을 수행할 수 있다. 초임계유체 크로마토그래피를 사용한 경우에는 보다 우수한 컬럼 효율과 분리도를 얻을 수 있었다.

요 약

최근 생체 내에서 다른 약리활성을 보이는 키랄물질의 고순도 제조에 관심이 증가되고 있다. 현재 널리 사용되고 있는 것은 키랄고정상을 이용한 기존 분리방법에 비해서, 제조 후 안정성과 환경적인 측면을 고려한 초임계유체를 이용한 분리방을 시도하였다. 본 연구에서는 키랄물질인 ibuprofen의 최적의 분리 조건을 구하기 위해서 온도와 압력, 첨가되는 IPA의 양에 따른 체류인자와 분리도의 영향을 고찰하였다. 온도가 감소하고 압력이 증가할수록 체류인자는 감소하였다. IPA의 양에 따라 더 큰 영향을 받아서 IPA의 양이 많을수록 분리도는 감소하는 경향을 보였다. 실험으로부터 정한 최적의 분리조건은 130 bar, 311.15 K, 4% IPA (vol.)일 때이었다. 동일한 주입량에서 액체 크로마토그래피에서는 비선형의 용출곡선을 보였지만, 초임계유체 크로마토그래피에서는 선형의 용출곡선을 얻었다.

감 사

본 연구를 지원해 주신 한국과학기술연구원의 나노환경연구센터와 인하대학교 초정밀분리기술연구센터에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ahuja, S. (2000), Chiral Separation by Chromatography, pp3-13, Oxford Univ. Press. New York.
- Medvedovici, A., P. Sandra, L. Torbio, and F. David (1997), Chiral packed column subcritical fluid chromatography on polysaccharide and macrocyclic antibiotic chiral stationary phases, *J. Chromatogr. A* **785**, 159-171.
- Manon, S. V. and A. J. Robert (1998), Analytical supercritical fluid chromatography using fully automated column and modifier selection valves for the rapid development of chiral separations, *J. Chromatogr. A* **826**, 217 - 225.
- Klesper, E., A. H. Corwin, and D. A. Turner (1962), High pressure gas chromatography above critical temperatures, *J. Org. Chem.* **27**, 700-701.
- Lee, C. H., Y. W. Lee, J. D. Kim, and K. H. Row (2001), Separation of perillyl alcohol in korean orange peel by supercritical CO₂ and preparative high-performance liquid chromatography, *Korean J. Chem. Eng.* **18**, 352-356.
- Phinney, K. W. (2000), SFC of drug enantiomers, *Anal. Chem.* **72**, 204A-211A.
- Macaudière, P., M. Caude, R. Rosset, and A. Tambuté (1989), Chiral resolutions in SFC : Mechanisms and applications with various chiral stationary phases, *J. Chromatogr. Sci.* **27**, 583-591.
- Schoenmakers, P. J., G. M. Louis, and H.-G. JANSSEN (1990), Comparison of stationary phases for packed-column supercritical fluid chromatography, *J. Chromatogr.* **506**, 563-578.
- Lucien, F. P. and N. R. Foster (2000), Solubilities of solid mixtures in supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluid* **17**(2), 111-134.
- Villeneuve M. S. and R. J. Anderegg (1998), Analytical supercritical fluid chromatography using fully automated column and modifier selection valves for the rapid development of chiral separations, *J. Chromatogr. A*, **826**, 217 - 225.
- Ducrer, A., M. Trani, P. Pepin, and R. Lortie (1997), Chiral high performance liquid chromatography resolution of ibuprofen esters, *J. Phar., Biomed. Anal.* **16**, 1225-1231.