

## Aspen Chromatography에 의한 Tröger base의 회분식 크로마토그래피 전산모사

김정애 · 박문배 · 김인호<sup>†</sup>

충남대학교 화학공학과  
305-764 대전시 유성구 궁동 220  
(2009년 6월 18일 접수, 2009년 8월 3일 채택)

### Batch Chromatography Simulation of Tröger base by Aspen Chromatography

Jung-Ae Kim, Moon-Bae Park and In Ho Kim<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea  
(Received 18 June 2009; accepted 3 August 2009)

#### 요 약

Tröger's base 중 (+)-Tröger's base는 항혈전제로 Thromboxane A<sub>2</sub>(T×A<sub>2</sub>) Synthase의 효소 활성을 저해하여 동맥경화의 치료제로 널리 사용되고 있다. 따라서 (+)-Tröger's base를 라세미 혼합물로부터 순수하게 분리하는 것은 중요한 연구대상이다. 하지만 실험을 통한 (+)-Tröger's base의 순수한 분리에는 많은 시간과 비용이 필요하게 되므로 분리 효율의 향상에 많은 어려움이 있다. 이러한 단점을 보완하고자 Aspen Chromatography 전산 모사는 여러 조건하에서 직접 실험을 하지 않는 효율적인 시뮬레이션 방법으로서 분리 효율 등을 예측할 수 있으므로 생산성 향상에 드는 시간과 비용을 절약할 수 있다. Aspen Chromatography simulator로 Tröger's base의 주입량과 이동상 속도를 변화시켜 TB(-)와 TB(+)의 분리도, 수율 그리고 다양한 흡착식을 비교하였다. TB(-)와 TB(+)의 분리도와 순수한 수율은 이동상 속도 0.25 mL/min일 때 가장 높았다. 고정상과 이동상 농도사이의 관계식을 표시하는 등온흡착식을 변화하여 전산모사한 결과 Ideal Adsorbed Solution(IAS) Statistical Langmuir 등온흡착식이 분리 효율에 좋은 결과를 가져왔다.

**Abstract** – (+)-Tröger's base in Tröger's base racemates that inhibits thromboxane A<sub>2</sub>(T×A<sub>2</sub>) synthase has been used to treat arteriosclerosis. Separation of (+)-Tröger's base by chromatography has become a major concern. However separation experiments of (+)-Tröger's base need time and consumables so that simulation with Aspen Chromatography could save time and costs by predicting the efficiency of separation. Injection amount and eluent flow rate were varied to compare the resolutions and yields of TB(-) and TB(+). Highest resolution and yield were attained at the eluent rate of 0.25 mL/min. Isotherms representing the relationship between mobile phase concentration and stationary phase concentration were changed to get the best separation with Ideal Adsorbed Solution(IAS) Statistical Langmuir isotherms.

Key words: Tröger Base, Aspen Chromatography Simulation

#### 1. 서 론

현재 시판되고 있는 의약품 중 대부분은 광학 이성질체이다. 광학 이성질체는 동일한 물리적, 화학적 성질을 가지고 있으며 오로지 키랄 분리환경 하에서만 구별이 가능하다. 키랄 분리환경 하에서 한 쌍의 광학이성질체는 서로 다른 물리적, 화학적 성질을 나타낸다.

한 쌍의 광학 이성질체는 생체 내에서 서로 다른 물리적, 화학적 성질을 나타내고 결국 의약품의 두 광학이성질체들은 투여 후 각기 다른 속도로 분해, 흡수 및 활성화됨으로써 다른 생리 활성을 나타

낸다. 생체 내에서 서로 다른 생화학적 물질로 작용하며 광학 이성질체 중 하나는 의약적 효능이 있는 반면에 다른 하나는 아무런 생리적 활성을 나타내지 않거나 혹은 부작용을 나타낸다[1]. 그 결과 전 세계적으로 순수한 키랄 의약품을 제조하는 기술 개발에 대한 관심이 급증하고 있다.

크로마토그래피는 혼합된 시료 성분이 이동상과 고정상을 통과하면서 서로 다른 물리적·화학적 상호작용에 의한 체류시간 차이로 분리하는 기술이다. 따라서 크로마토그래피를 이용한 두 광학 이성질체와 키랄 고정상 사이의 상호작용에 의해 광학 이성질체의 분리는 이상적인 방법으로 생각되고 있다. 그 중 고성능액체 크로마토그래피(HPLC)는 액체크로마토그래피보다 더 작은 입자를 사용하고 훨씬 높은 압력을 가하여 고속으로 분리하는 도구이다[2].

전 세계 수많은 사람들이 심장 발작, 뇌졸중, 폐색전(embolism),

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ihkim@cnu.ac.kr

<sup>‡</sup>이 논문은 KAIST 장호남 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

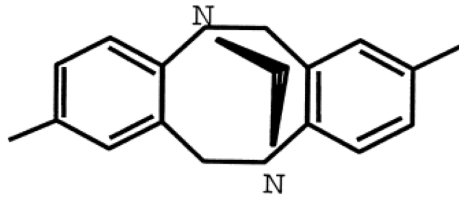


Fig. 1. Molecular structure of Tröger base.

정맥 혈전 등 심혈관계 질환의 희생자가 되고 있으며, 이러한 종류의 질환은 모두 체내 정상적인 혈액의 흐름이 저하하거나 방해하는 혈액 응고(clot)로부터 일어난다. 혈액 응고의 형성을 예방하기 위해 가장 흔히 처방되는 약물군이 항응고제(anticoagulant)와 항혈전제(antiplatelets)이다. 동맥경화증상에 동맥 내부의 혈소판이 응집되어 생기는 동맥 혈전의 발생을 예방하는 것이 중요하다. 광학이성질체 중 Tröger's base는 Thromboxane A2(TxA2) Synthase의 효소 활성을 저해 하는데 매우 효과적이며 그 중, (+)-Tröger's base는 항혈전제로서 TxA2에 의한 혈소판 활성을 저해하는 역할을 한다. Fig. 1에 광학이성질체 Tröger's base의 화학구조를 나타냈다. 항혈전 효과가 매우 뛰어난 (+)-Tröger's base의 순수한 분리기술 개발에 대한 관심이 증가하고 있다[3,4].

HPLC 시스템에서 크로마토그램의 분리특성인 선택도(selectivity), 분리도(resolution)를 계산할 수 있고 그에 따라 분리특성을 확인할 수 있다.

$$\text{선택도}(\alpha) = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} = \frac{k_2}{k_1} \tag{1}$$

k는  $t_R - t_0$ 로 정의되며  $t_{R2}$ ,  $t_{R1}$ 은 각성분의 체류시간을 나타내며 각각의 peak의 highest peak time으로 계산하였다.  $t_0$ 은 시료가 고정상과 상호작용이 없고 검출기에 도달하는 시간을 표시한다. 칼럼의 불감시간(dead time)이라고도 부른다.

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

Fig. 2를 보면  $w_1$ 과  $w_2$ 는 두 피크의 기준선사이의 폭을 나타내고 시간단위로 표시된 등온 흡착식은 고정상과 이동상 사이 용질의 평형 관계에 대하여 정의하는 식이다.

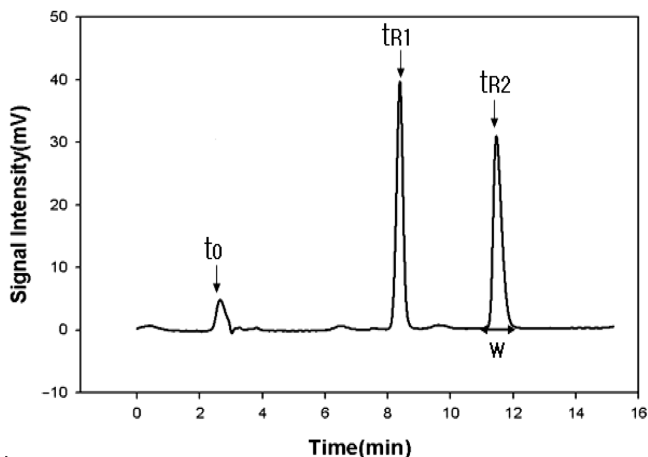


Fig. 2. Typical chromatogram and definition of retention times.

크로마토그래피 분리 구동력은 흡착 평형에서 벗어나는 정도를 고려해야 하므로 흡착 등온식은 크로마토그래피 시스템의 설계에서 매우 중요한 요소이다. 만일 분리 물질의 흡착 등온식을 알고 있다면 일정한 조건 하에서 칼럼 내의 분리 과정을 예측할 수 있다. 식으로 Langmuir 등온 흡착식, Extended Langmuir 등온 흡착식 그리고 Statistical Langmuir 등온 흡착식을 사용하여 성분의 흡착식을 이용하여 분리효율을 알 수 있다[5-7].

$$\text{Langmuir 등온 흡착식: } w_i = \frac{IP_{1i}IP_{2i}c_i}{1 + IP_{2i}c_i} \tag{3}$$

$$\text{Extended Langmuir 등온 흡착식: } w_i = \frac{IP_{1i}IP_{2i}c_i}{1 + \sum_{k=1}^{nc} IP_{2k}c_k} \tag{4}$$

$$\text{Statistical Langmuir 등온 흡착식: } w_i = \frac{IP_{1i}c_i(IP_{2i} + 2IP_{3i}c_i)}{1 + IP_{2i}c_i + IP_{3i}c_i^2} \tag{5}$$

위식에서  $w_i$ (고정상농도),  $c_i$ (이동상농도),  $IP_1$ ,  $IP_2$ ,  $IP_3$ 은 매개변수이다.

광학이성질체 분리의 필요성이 크게 대두되고 있지만 실험을 통한 분리 효율의 향상에는 많은 시간이 소요된다. Simulation 방법을 사용하면 실제로 실험을 하지 않고도 시간과 장소, 사용자에게 관계 없이 언제나 같은 결과 도출을 통해 분리 효율 등을 예측할 수 있으므로 생산성 향상에 드는 시간과 비용을 절약할 수 있다. 그 중 Aspen Chromatography 전산 모사 방법은 여러 가지 조건 하에서 쉽고 빠르게 전산모사를 수행할 수 있으며 최적 분리조건을 쉽고 빠르게 얻을 수 있다. 본 연구에서는 Tröger's base 키랄 화합물의 분리를 위한 Aspen Chromatography 전산모사 실험을 수행하였다.

## 2. 전산모사

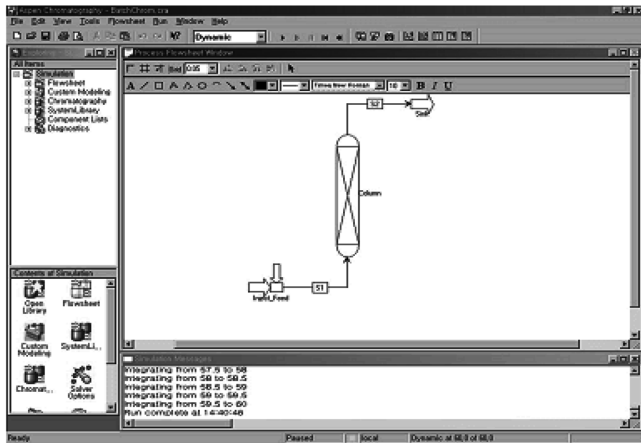
### 2-1. 전산모사 소프트웨어

Aspen Chromatography는 Fig. 3(A)과 같이 기본적으로 Menu, Toolbar, Flowsheet window, Message window, Status bar, Simulation Explorer window로 구성되어 있다. 이렇게 구성된 Aspen Chromatography의 실행 결과는 fig. 3(B)처럼 report tab에서 확인할 수 있다. report tab에서는 pure yield, peak concentration 그리고 peak time 등의 공정 모사결과에 대한 정보를 얻을 수 있다.

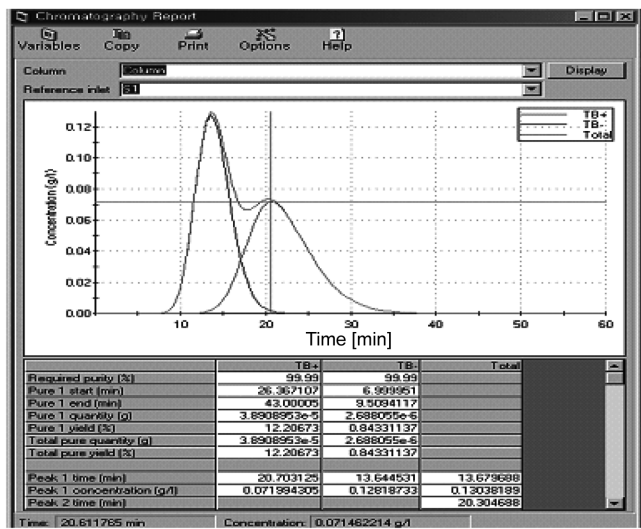
### 2-2. 전산모사방법

광학 이성질체인 Tröger's base의 분리특성을 찾기 위하여 고정상은 microcrystalline cellulose triacetate을 사용하였다. 이 고정상에 대한 TB(-)와 TB(+의 자료는 문헌[5,6]에 보고되고 있다. 그리고 크로마토그래피 칼럼 내의 충전물에 대한 압력과 이동상의 속도는 항상 일정하므로 압력 강하가 일정한 공정으로 사용하였다.

Aspen chromatography simulator을 사용하여 Table 1에 주어진 값을 이용하여 회분식 크로마토그래피를 전산 모사하였다. 시료주입량과 이동상 유속 변화에 따른 크로마토그램을 비교하였다. Langmuir 등온 흡착식, Extended Langmuir 등온 흡착식 그리고 Statistical Langmuir 등온 흡착식을 사용하여 흡착식에 따른 분리효율 변화를 비교하였다. 이론 단수에 따른 크로마토그램의 비교를 위해 TB(-)가 170으로 고정될 때, TB(+)=86, 106, 126 경우와 TB(+가 106로 고정될 때, TB(-)=150, 170, 190에 따른 크로마토그램을 비교하였다.



(A)



(B)

Fig. 3. (A) Basic components of Aspen Chromatography (B) Report tab example.

Table 1. Simulation data for ASPEN chromatography batch simulation

Name	Value	Unit	Description
$H_b$	25	cm	Height of adsorbent layer
$D_b$	0.46	cm	Internal diameter of adsorbent layer
$E_i$	0.66		Interparticle voidage
$N_p(TB+)$	106		Number of plates
$N_p(TB-)$	170		Number of plates
$IP_1(TB+)$	6.73		Isotherms parameter
$IP_1(TB-)$	19.73		Isotherms parameter
$IP_2(TB+)$	0.948		Isotherms parameter
$IP_2(TB-)$	0.157		Isotherms parameter
$IP_3(TB+)$	1.072		Isotherms parameter
$IP_3(TB-)$	0.0		Isotherms parameter

### 3. 결과 및 고찰

유속 0.5 mL/min 조건에서 광학 이성질체 혼합물의 주입량을 증가시켰을 경우 전산모사 결과는 Fig. 4와 같다. 0.5, 1.0, 3.0 mL까지는 주입량의 증가에 따라 피크 크기는 증가하였고 TB(-)와 TB(+)의 체류시간의 큰 차이는 관찰되지 않았다. 하지만 6 mL를 주입했

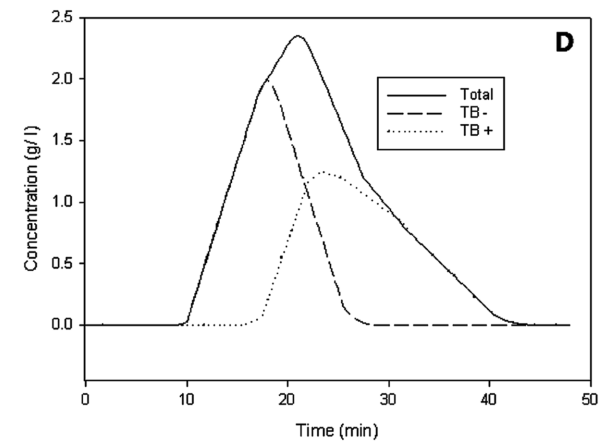
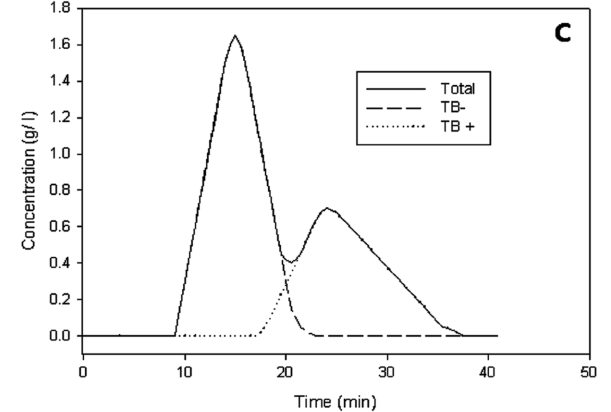
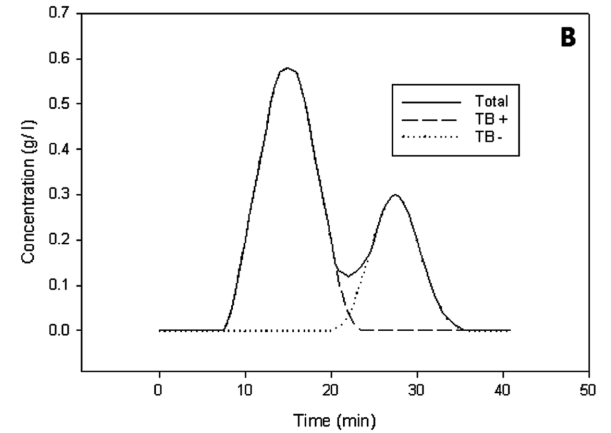
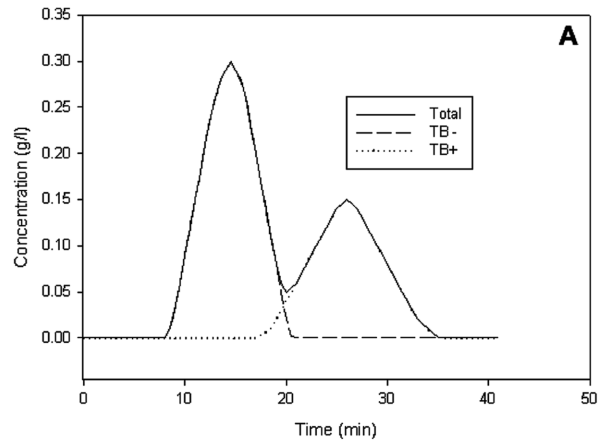


Fig. 4. Comparison of chromatograms by changing injection volume (a) 0.5 mL (b) 1.0 mL (c) 3.0 mL (d) 6.0 mL.

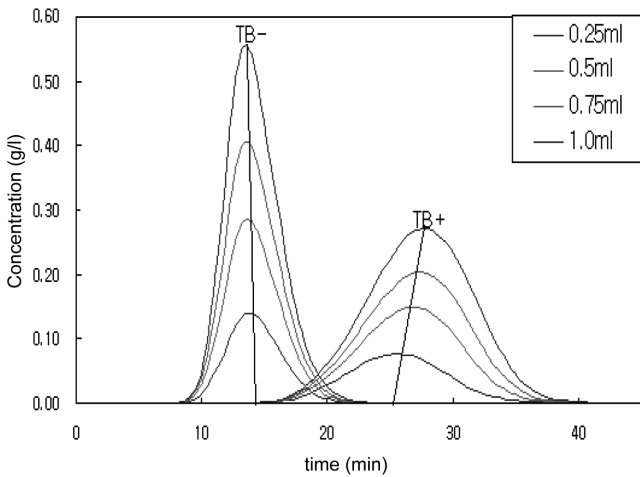


Fig. 5. Variation of chromatogram retention time according to the increase of injection volume.

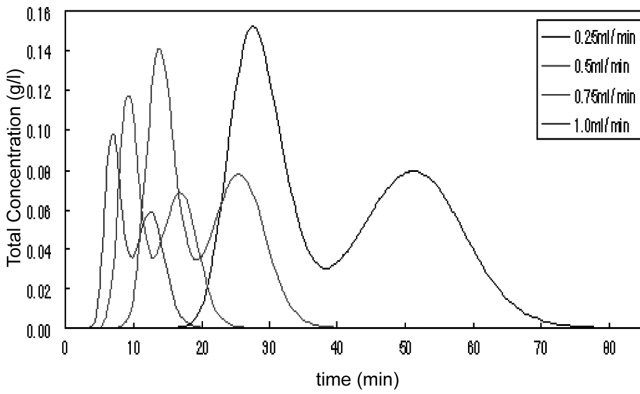


Fig. 6. Variation of chromatograms according to the increase of eluent flow rate; injection volume 3.0 ml (first peak is TB-, second peak is TB+).

을 경우에는 TB(+)의 피크가 앞으로 당겨지면서 두 피크의 체류시간 차이가 감소하였고 분리능이 현격히 감소하였다. 일반적인 크로마토그래피 실험에서 두 성분의 분리도가 주입부피의 증가에 따라 감소하는 현상을 볼 수 있다[8]. 그리고 주입량 변화에 대한 체류 시간 변화는 TB(-)보다 TB(+)이 더 많은 영향을 받았다(Fig. 5). 광학 이성질체 혼합물의 주입량을 0.25~1 mL로 증가시켰을 경우에는 주입량의 증가에 따라 피크 높이가 같이 증가하였지만 TB(-)는 체류 시간 변화가 없었고 TB(+)의 체류시간이 뒤로 뒤쳐지는 경향을 Fig. 5를 보면 확인할 수 있다. 이는 흡착 등온곡선식에서 TB(+)의 큰  $IP_2$  매개변수의 영향으로 사료된다. 고정상 농도가 주입량의 증가에 따라 식 (5)에 의해 감소하기 때문이다[5].

시료 3.0 mL를 주입하였을 때 이동상의 속도가 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mL/min로 변할 때 체류시간의 변화는 Fig. 6에서 관찰할 수 있다. 이동상의 유속이 줄어들수록 두성분의 체류시간 차이가 커짐을 알 수 있었다. 문헌 9에 토의된 바와 같이 식 (1)의 선택도는 체류시간의 함수이고 낮은 유속에서 체류시간의 차이가 커지며 두 피크 사이의 겹쳐지는 부분이 작아진다. 이는 순수한 TB(-)와 TB(+)의 시료를 얻는데 중요하다. Fig. 7을 보면 이동상의 유속이 증가할수록 순수한 TB(-)와 TB(+)의 수율이 1 mL/min 까지 감소함을 볼 수 있다. 주입부피가 1 mL까지는 칼럼의 용량이 주입된 용질을 분리

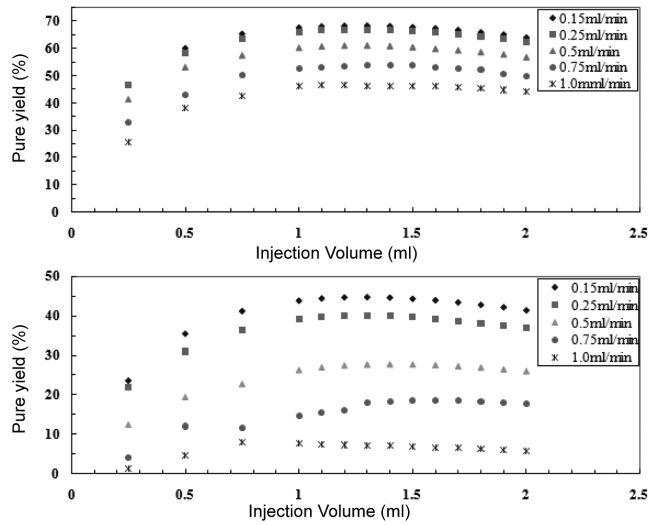


Fig. 7. Variation of yield according to the increase of flow rate (a) TB(+), (b) TB(-).

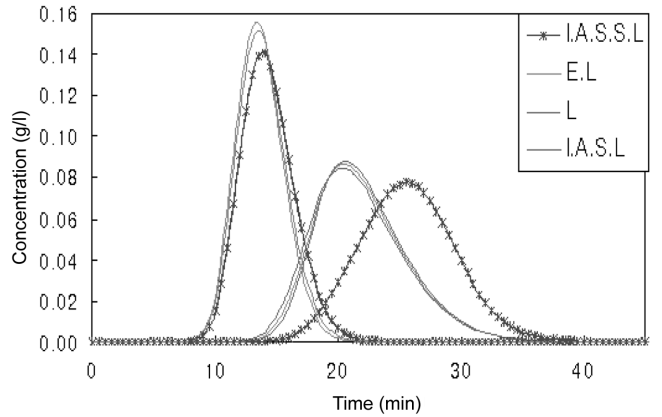


Fig. 8. Variation of chromatograms according to isotherm equations (I.A.S.S.L-Ideal Adsorbed Solution Statistical Langmuir, E.L-Extended Langmuir, I.A.S.L- Ideal Adsorbed Solution Langmuir).

하기에 충분하여 모든 유량에서 주입부피가 증가하며 순수한 수율이 증가하였다. TB(+)의 경우는 등온흡착식의  $IP_2$  인자로 인해 겹쳐지는 크로마토그램의 면적이 크며 순수수율도 상대적으로 TB(-)보다 작다. 주입량의 변화에 따른 순도 변화를 보면 최적 주입량이 존재하며 모든 유량에 대해 1~1.5 mL의 주입량이 좋은 결과를 보였다.

등온 흡착식의 변화에 대해서는 Fig. 8을 보면 IAS Statistical Langmuir 등온 흡착식이 가장 분리 효율이 좋은 것으로 나타났다. 이는 다른 등온 흡착 식에는 존재하지 않는  $IP_3$  값에 의해 TB+의 분리효율이 증가하였기 때문이다. Langmuir 등온 흡착식과 IAS Langmuir 등온 흡착식을 비교했을 때, 분리 목적물인 TB(+)의 피크 농도가 Langmuir 등온 흡착식을 적용했을 때에 더 큼을 알 수 있다. 피크의 폭 또한 Langmuir 등온 흡착식에 대한 크로마토그램이 더 좁게 나타났으므로 분리 효율이 더 높다.

분리도를 증대시키는데 이론단수의 역할도 매우 크다. 그래서 TB(-)와 TB(+)의 이론 단수를 변화시켰을 때에 따른 크로마토그래피의 비교를 Fig. 9에 나타냈다. (a)는 TB(-)가 170일 때, TB(+)=86, 106, 126을 비교하였고 (b)는 TB(+)가 106일 때 TB(-)=150, 170,

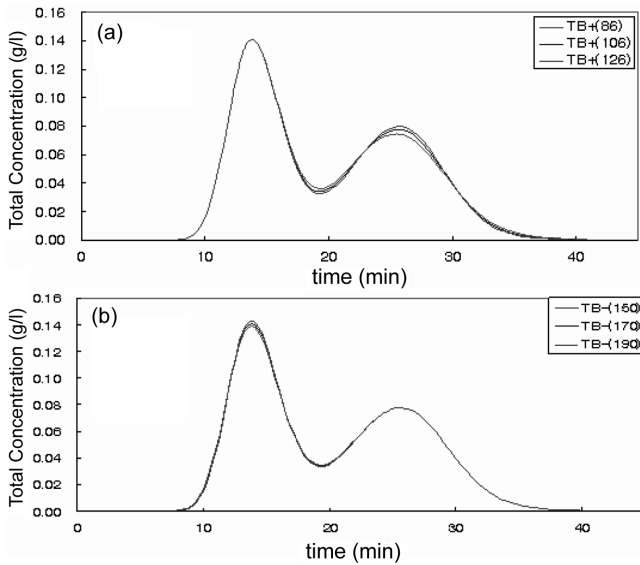


Fig. 9. Variation of chromatograms according to the increase of number of plates (a) TB(+), (b) TB(-).

190의 수치를 비교하였다. Fig. 9을 관찰하면 TB(-)보다 TB(+)가 이론단수에 더 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. 그러므로 TB(+)의 분리 효율을 높이기 위해서는 칼럼의 충전상태 변화를 통해서 TB+의 이론 단수를 증가시키는 것이 요구된다.

### 참고문헌

1. Hyun, M. H, "Separation of Optical Isomers by LC," *Minumsa*, Seoul(1996).

2. Boisvert, J., Caille, G., McGilveray, I. J. and Qureshi, S. A., "Quantification of Ketoprofen Enantiomers in Human Plasma Based on Solid Phase Extraction and Enantioselective Column Chromatography," *J. Chromatogr. B*, **690**, 189(1997).
3. Vardelle, E., Agnes, M. M., Jouannetaud, M. P., Jacquesy, J. C. and Jerome, M., "An Efficient Access to New Tröger's Base Using Superacidic Chemistry," *Tetrahedron Lett*, **50**, 1093-1096 (2009).
4. Bailly, C., Laine, W., Demeunynck, M. and Lhomme, J., "Enantiospecific Recognition of DNA Sequences by a Proflavine Tröger's Base," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **273**, 681-685 (2000).
5. Mühlbacher, K., Seidel-Morgenstern, A. and Guiochon, G., "Detailed Study of Tröger's base Separation by SMB Process," *AIChE Journal*, **50**, 611-624(2004).
6. Jacobson, S., Seidel-Morgenstern, A. and Guiochon, G., "Study of Band Broadening in Enantioselective Separations using Microcrystalline Cellulose Triacetate. I. The Linear Case," *J. Chromatogr.* **13**, 637(1993).
7. Pedferri, M., Zenoni, G., Mazzotti, M. and Morbidelli, M., "Experimental Analysis of a Chiral Separation through Simulated Moving Bed Chromatography," *Chem. Eng. Sci.* **54**, 3735 (1999).
8. Lee, S. M., Yoon, T.-H. and Kim, I.-H., "Simple Estimation of Langmuir Parameters by HPLC Experiments," *Clean Technol.*, **9**, 81(2003).
9. Kim, B. L., Kim, J. M., Kim, W. S. and Kim, I.-H., "Separation Characteristics of Mandelic Acid in Kromasil HPLC Column," *Korean Chem. Eng. Res.*, **46**, 681(2008).