

## 이브프로펜 Enantiomer의 크로마토그래피 흡착 상관관계식

김소영\* · 송태호\* · 이종기† · 서성섭\* · 최민호\* · 박태진 · 박달근

한국과학기술연구원 나노환경연구센터

\*홍익대학교 화학공학과

(2002년 1월 9일 접수, 2002년 2월 28일 채택)

## Adsorptive Correlations of Chromatography for Ibuprofen Enantiomers

So-Young Kim\*, Taeho Song\*, Joong Kee Lee†, Sung-Sup Suh\*, Min-Ho Choi\*,  
Tae-Jin Park and Dalkeun Park

Eco-Nano Research Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-791, Korea

\*Department of Chemical Engineering, Hongik University, Seoul 121-791, Korea

(Received 9 January 2002; accepted 28 February 2002)

### 요 약

본 연구에서는 상온에서 분리되어진 각각의 라세미 이브프로펜 대장체들의 흡착 매개변수를 다음 세 가지 방법에 의해서 구하고자 하였다. 등온 흡착식을 구하는 첫 번째 방법으로서 흡착 평형식으로서 Langmuir 식을 가정하였으며 Langmuir 흡착 매개변수를 구하기 위하여 NLSF(nonlinear least squares fitting) 방법을 사용하였다. 두 번째 방법으로는 계산의 오차를 줄이기 위한 방법으로서 기존의 방법과는 다르게 시행오차를 통하여 흡착 매개변수 값을 얻을 수 있었다. 세 번째 방법은 흡착 평형식으로서 competitive bi-Langmuir 식을 가정하고 동적 흡착 실험방법인 pulse method에서  $t_R$ (retention time)과  $dq/dC$  관계를 사용하였다. 이 세가지 방법을 통하여 흡착식의 매개변수 값을 구할 수 있었다. 크로마토그래피를 이용한 키랄 의약품의 광학분할에서 체류시간은 키랄 고정상 칼럼 내의 물질수지식으로부터 알 수 있듯이 흡착평형, 고정상과 상호작용이 없는 물질의 체류시간(dead time), 칼럼 내의 고정상과 이동상의 부피비(상비) 그리고 칼럼 충전밀도로부터 결정된다. 본 연구에서는 체류시간에 영향을 주는 요인 중에서 칼럼 충전밀도와 상비는 고정하였고 흡착평형과 상비에 영향을 주는 조업조건과 체류시간 사이의 상관관계식을 얻었다. Dead time에 영향을 주는 조업조건으로서 이동상 조성, 이동상 유속과 체류시간사이의 상관관계식을 얻었다. 여기서 얻은 상관관계식들을 이용하여 시간에 따른 조업조건의 변화로부터 체류시간의 변화를 알 수 있었고, 이 결과를 이용하여 시간에 따른 조업조건 변화가 체류시간에 영향을 주므로 분리도의 변화를 예측할 수 있었다.

**Abstract** – In this study, three methods were employed to obtain adsorption parameters for S, R-(±)-Ibuprofen enantiomers. In the first method, Langmuir isotherm was assumed and nonlinear least squares fitting was applied to obtain Langmuir adsorption isotherm parameters. The second method was used to obtain adsorption isotherm parameters by the way which is different from conventional methods to reduce computation error. In the third method, competitive bi-Langmuir equation was assumed. Pulse method which is a dynamic adsorption experimental method was used to derive a relationship between the retention time ( $t_R$ ) and  $dq/dC$ . In the optical separation of chiral drug by chromatography, the retention time depends on adsorption equilibrium, dead time, phase ratio, the column packing density. Among chromatography system variables, the column packing density and phase ratio were fixed, but solvent compositions and solvent flow rates were employed as operating parameters in this study. Correlation equations between the retention time and operating conditions were obtained from the experimental results. This correlation equation would allow us to predict retention time change with operating conditions. Also resolution could be predicted.

Key words: Ibuprofen, Enantiomer, Chromatography, Adsorption, Correlation

### 1. 서 론

흡착 분리공정을 개발하는데 있어서 가장 중요한 전 단계의 하나는 화합물이 분리되는 흡착평형을 결정하는 것이다[1]. 칼럼의 조작 조건,

분리 성능에 관한 정량적인 방법을 토대로 액체크로마토그래피를 공학 적 분리정제 공정으로 확장시키기 위하여 이브프로펜의 광학 이성질체 들과 키랄 고정상 물질 사이의 등온흡착평형식의 결정과 분석에 대한 연구를 수행하였다.

등온 흡착평형 곡선은 전통적으로 정적 방법에 의해서 측정되어왔다. 이 방법은 용액에 흡착제를 넣어 용질의 농도변화를 측정하고 이로부터 등온흡착 곡선상의 점들을 각각 구하는 것이다. 그러나 이 방법은 정

†To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: leejk@kist.re.kr

확한 측정을 위해서 필요한 용질과 흡착제의 양이 너무 많으며, 평형의 도달 여부에 대한 불확실성과 실험 시간이 많이 소요되는 단점을 지니고 있다[2]. 또한 동적 방법으로서 가장 많이 사용되는 frontal analysis 방법은 단일 성분의 흡착 곡선 측정에만 사용되므로 라세미 화합물이 분리되어져 나온 각각의 대장체들의 흡착 곡선의 측정에는 적합하지 않다.

따라서 본 연구에서는 단일 성분이 아닌 광학 이성질체들의 등온흡착 평형식을 측정하기 위하여 이동상이 일정속도로 흐르고 있는 동적 상태에서 흡착 곡선을 측정하는 두 가지 방법을 제시하였다. 여기서 사용된 키랄 의약품, 이브프로펜에 대한 키랄 고정상 칼럼과 이동상의 종류, 조성비등 최적 분리조건에 대한 연구결과는 이미 보고한 바 있다[3].

고성능 액체 크로마토그래피로부터 분리가 일어나는 과정은 흡착질과 이동상 사이의 강한 상호작용에 의한 체류시간의 차이로 결정된다[4]. 특히 라세미 혼합물이 키랄 고정상 크로마토그래피에서 분리되는 것은 한 쌍의 광학 이성질체들이 키랄 고정상과 상호작용을 하면서 일시적인 부분 입체 이성질체들의 안정성 차이에 의해 광학분할이 이루어지는 것이다[5].

광학분할을 위하여 진행되는 과정은 라세미 혼합물의 분자식에 근거하여 분리를 가능하게 할 것으로 예측되는 고정상을 선택하는 것이다[3]. 분리가 뚜렷이 얻어질 수 있는 고정상 물질을 찾은 뒤 분리공정을 발전시키기 위한 과정으로서 체류시간에 영향을 주는 조업조건의 변화를 통하여 향상된 분리도를 얻을 수 있다. 체류시간은 키랄 고정상 칼럼내의 물질수지식으로부터 알 수 있듯이 흡착평형, 고정상과 상호작용이 없는 물질의 체류시간(dead time), 칼럼 내의 고정상과 이동상의 부피비(상비) 그리고 칼럼 충전밀도로부터 결정된다. 따라서 본 연구에서는 동적 상태에서 흡착 곡선을 측정하는 두 가지 방법으로서 첫 번째는 다른 조업조건을 일정하게 하였을 때 흡착평형에 영향을 주는 조건으로 주입농도를 증가시키는 방법과 두 번째 주입농도는 이동상 내의 흡착질의 농도보다 높게 유지하고 이동상 내에 흡착질의 농도를 증가시키는 방법이 있다. Dead time에 영향을 주는 조건으로는 이동상 조성변화와 이동상 유속변화이다. 칼럼 충전밀도와 상비는 칼럼 팩킹방법과 흡착제의 크기가 영향을 준다.

본 연구에서는 체류시간에 영향을 주는 요인 중에서 칼럼 충전밀도와 상비는 고정하였고 흡착평형과 상비에 영향을 주는 조업조건과 체류시간사이의 상관관계식을 얻었다. Pulse method를 통해서 competitive bi-Langmuir isotherm을 구하였고, 주입농도의 증가에 따라 체류시간과 상관관계식을 비선형 최소자승법을 통하여 얻었다. Dead time에 영향을 주는 조업조건으로써 이동상 조성, 이동상 유속과 체류시간사이의 상관관계식을 얻었다. 여기서 얻은 상관관계식들을 이용하여 시간에 따른 조업조건의 변화로부터 체류시간의 변화를 알 수 있었고, 이 결과를 이용하여 시간에 따른 조업조건의 변화가 체류시간에 영향을 주므로 분리도의 변화를 예측할 수 있었다[6-11].

## 2. 이론적 배경

등온 흡착식을 구하는 첫 번째 방법으로서 Langmuir 식을 가정하였으며 칼럼 내의 물질수지식으로부터 가정된 Langmuir 식이 유도되었다. 이동상 내의 시료농도와 용질의 칼럼 내의 체류시간을 변수로하여 nonlinear least squares fitting(NLSF)을 이용하여 흡착 매개변수를 구할 수 있었다. 두 번째 방법으로는 계산의 오차를 줄이기 위한 방법으로서 기존의 방법과는 다른 시행오차를 통한 방법을 사용하였다. 선형 크로마토그래피를 나타내는 주입시료 농도영역에서 Langmuir 식의 a값을 가정하였다. 가정된 a값은 비선형 크로마토그래피 영역에서 증가된 시료 농도에서 Langmuir 식의 각각의 b값을 구하는데 사용하였다. 여기서 구해진 각각의 b값은 선형 영역에서 가정된 a값에 기초가 되어 구해진 각각의 b값을 통하여 비선형 크로마토그래피 영역의 C<sub>s</sub>값을 좀 더

정확히 구하는데 이용하였다. 첫 번째 방법과는 역으로 구해진 C<sub>s</sub> 값을 사용하여 C<sub>m</sub> 값과 NLSF함으로써 비선형 영역의 실험 데이터에 근접된 Langmuir 식의 흡착 매개변수 b값과 수정된 a값을 구할 수 있었다.

첫 번째와 두 번째 방법을 통하여 흡착매개변수를 구하는 방법을 좀 더 자세히 기술하면 다음과 같다. 키랄 고정상물질인 Kromasil과 각각의 이브프로펜 대장체들은 경쟁적 흡착 관계가 아님을 가정하고 이성질체의 등온 흡착 곡선식을 Langmuir 식으로 가정한 것이다. 가정된 Langmuir 식은 아래와 같다.

$$C_s = aC_m / (1 + bC_m) \quad (1)$$

C<sub>s</sub>는 고정상에서의 시료의 농도이고 C<sub>m</sub>은 이동상에서의 시료의 농도이다.

식 (1)에서 C<sub>s</sub>를 C<sub>m</sub>으로 미분한 접선기울기를 보면 아래와 같다.

$$dC_s/dC_m = a / (1 + bC_m)^2 \quad (2)$$

이 식을 물질수지식에 대입하면 아래와 같은 식이 유도되어진다.

$$a(1 + bC_m)^2 = k'\beta/\rho_s = (t_R - t_0/t_0)\beta/\rho_s \quad (3)$$

여기에서 t<sub>R</sub>은 용질의 칼럼 안의 체류시간이다. 용량인자 k'는 이동상에 있는 분석시료 양과 고정상에 있는 분석시료 양의 비로 정의된다. t<sub>0</sub>는 용매 경계면이 칼럼 출구에 도착하는 시간으로서 분석시료가 이동상 내에서 용해되지 않는 경우의 체류시간에 상응하며 칼럼 dead time이라 부르기도 한다. β는 상비로서 칼럼 내의 고정상의 부피에 대한 칼럼내 이동상의 부피로 나타내어진다. ρ<sub>s</sub>는 키랄 고정상의 충전밀도를 나타낸다.

위 식에서 β와 ρ<sub>s</sub> 값은 일정하므로 C<sub>m</sub>값이 0에 가까워지는 주입농도가 아주 작은 영역에서는 a값이 오직 k'값에 의존함을 알 수 있다. 여기서 a값과 b값은 (k'β/ρ<sub>s</sub>)<sup>0.5</sup>를 y축으로 하는 ReciprocalMod(two parameter linear reciprocal function)[12]를 모델로 하여 NLSF를 함으로써 직접 구할 수 있다. Fitting 방법은 Levenberg-Marquardt algorithm에 기초한 방법으로써 Origin®'s nonlinear regression method를 사용하였으며 정확도는 결정계수(r<sup>2</sup>)로 나타내었다.

두 번째 측정방법은 흡착 매개변수를 구하는데 있어서 실험데이터와의 오차를 줄이기 위하여 시행오차적 방법을 사용하였다. 식 (3)으로부터 k'값이 일정하게 나오는 선형영역에서 a값을 초기의 a<sub>0</sub>로 가정할 수 있음을 알 수 있다. 실험에 사용된 증가된 각각의 C<sub>m</sub> 값에 대한 체류시간을 구할 수 있으므로 t<sub>R</sub>로부터 k'를 구하여 식 (3)에 대입하면 C<sub>m</sub> 값에 대한 dC<sub>s</sub>/dC<sub>m</sub> 값을 구할 수 있다. 식 (3)의 a값에 초기값 a<sub>0</sub>를 대입하고 각각의 C<sub>m</sub> 값에 대한 dC<sub>s</sub>/dC<sub>m</sub> 값을 대입하여 각각의 C<sub>m</sub> 값에서 각각의 Langmuir 흡착 매개변수 b값을 구한다. 여기서 b값은 비선형 영역에서 각각의 주입농도에 따라 다른 값을 가지게 되는데 이는 선형영역에서 가정된 a값에 기초하여 비선형 영역의 흡착 매개변수 b값을 직접 구함으로써 실험데이터로부터 좀 더 정확한 C<sub>s</sub>값이 구해질 것으로 예상할 수 있다. 이렇게 구한 Langmuir 흡착 매개변수 b값들과 초기에 가정된 a<sub>0</sub>로부터 각각의 C<sub>m</sub> 값들에 대한 C<sub>s</sub> 값들이 구해지면 다시 이 흡착 평형 데이터를 C<sub>s</sub>를 y축으로 하는 RectHyperbola(Rectangular hyperbola function)[12]를 모델로 하여 NLSF하면 첫 번째 방법보다 오차가 적은 Langmuir 흡착 매개변수 a값과 b값을 식 (4)에 의해서 구할 수 있다.

$$\text{ReciprocalMod: } y = a / (1 + bx) \quad \text{RectHyperbola: } y = abx / (1 + bx) \quad (4)$$

세 번째 방법은 키랄 고정상물질인 Kromasil과 각각의 이브프로펜 대장체들은 경쟁적 흡착 관계로 가정하고 competitive bi-Langmuir isotherm[2]를 통하여 흡착매개변수를 구하였다. 흡착실험은 동적 방법 중 pulse method의 t<sub>R</sub>(retention time)과 dq/dC관계[3]를 사용하였다.

$$q_i = \frac{a_{i,1}C_i}{1 + b_{A,1}C_A + b_{B,1}C_B} + \frac{a_{i,2}C_i}{1 + b_{A,2}C_A + b_{B,2}C_B} \quad (5)$$

여기서  $q_s$ 는 고정상에서 라세미 시료의 농도이고  $C_s$ 는 이동상에서 라세미 시료의 농도이며,  $C_A$ 와  $C_B$ 는 이동상에서 단일 광학이성질체의 농도를 나타낸다. a, b, c는 흡착 매개변수를 나타낸다. 식 (5)에서  $q_s$ 를  $C_s$ 로 미분한 값을  $y$ 값으로 하고  $C_A$ 와  $C_B$ 는 시료가 라세미 형태이므로  $C_s/2$ 로 하여 비선형 회귀분석을 통하여 위의 식의 흡착매개 변수를 구하였다.  $dq_i/dC_i$ 는 물질수지식으로부터 아래와 같은 값으로 유도된다.

$$t_R(C) = t_0 \left( 1 + F \frac{dq_i}{dC_i} \right) \quad (6)$$

여기서  $t_R$ 는 체류시간을 나타내고  $t_0$ 는 dead time이며 F는 칼럼 내의 고정상과 이동상의 부피를 나타낸다.

Bi-Langmuir isotherm의 흡착매개 변수를 구하기 위하여  $dq_i/dC_i$ 를 수식으로 구한 후 식 (6)의 결과를 그 값을 대체하고  $C_i$ 와  $dq_i/dC_i$  값을 NLSF하여 흡착매개 변수를 구하였다.

체류시간은 dead time이 실험을 통해 구해지면 용량인자로 표현될 수 있으며 용량인자는 물질수지식으로부터 이브프로펜 대장체가 고정상과 이동상에서의 질량비로 표현되어 여기에 상비를 곱하고 충전밀도로 나누면  $dq_i/dC_i$ 로 나타낼 수 있다.

다른 조업조건을 일정하게 하였을 때 흡착평형에 영향을 주는 조건으로서 주입농도를 증가시키는 방법과 주입농도는 이동상 내의 흡착질의 농도보다 높게 유지하고 이동상 내에 흡착질의 농도를 증가시키는 방법이 있다. Dead time에 영향을 주는 조건으로는 이동상 조성변화와 이동상 유속변화이다. 칼럼 충전밀도와 상비는 칼럼 팩킹방법과 흡착제의 크기가 영향을 준다.

### 3. 실험

본 실험에 사용된 HPLC의 칼럼은 Kromasil®충진제(Eka Chem., Sweden)를 내경이 4.6 mm, 길이가 25 cm인 stainless-steel 칼럼(Alltech)에 슬러리 팩킹하여 사용하였다. 실험에 사용한 이동상 용매는 hexanes (95% n-hexane), tert-butyl methyl ether[99.8%, HPLC grade, Aldrich Chemical Co.], acetic acid, Glacial[Baker Analyzed® HPLC Reagent]를 사용하였다. 이동상의 조성비는 hexane/tert-butyl methyl ether/acetic acid (75/25/0.1, v/v/v)를 사용하였다. 실험에 사용된 흡착제는 지름 10  $\mu$ m의 Kromasil®(Eka Chemicals)을 사용하였는데, 이 물질은 실리카겔에 O,O'-bis(4-tert-butylbenzoyl)-N,N'-diallyl-L-tartar diamide이 공유결합된 물질로, 측정된 particle density는 약 0.77 g/ml이다. 실험에 사용한 시료 라세미 이브프로펜은 삼일제약에서 제공받은 것을 사용하였다.

본 실험에서 사용한 실험장치는 고압펌프(Young-Lin M930) 2개, injection system(syringe+sample loop), gradient mixer(Waters), UV spectrometer (Young-Lin M720), data acquisition(Young-Lin, Autochrowin)을 사용하였다. 실험은 isocratic mode와 gradient mode에서 시간에 따라 이동상 내의 시료의 농도, 이동상 조성비, 이동상 유속을 변화시켜 실험하였고 UV detector는 데이터 모듈에 연결되어 모듈에서 PC로 데이터를 전달해 피크의 면적과 높이, 체류시간을 얻을 수 있다. 시료의 주입은 0.05 ml 주사기를 사용하고 샘플 루프는 10  $\mu$ l, 20  $\mu$ l를 사용하였다. Absorbance 값은 270 nm에서 유출되는 성분을 검출하였고 dead time( $t_0$ )을 구하기 위하여 이동상 성분 중 하나인 hexane을 사용하였고 시료의 주입 농도 범위는 0.0016925 g/ml에서 2.3695 g/ml까지이다. 팩킹 물질을 충전하기 위해 슬러리 팩키[Altech model 1666]를 사용하였고 HPLC를 주요 부분별로 나누면 고압펌프[Waters 510], Injector, 칼럼, UV spectrometer [Waters, Lambda-Max model 481] 및 data acquisition[Young-Lin, Autochrowin]으로 나눌 수 있다.

키랄 고정상물질인 Kromasil과 각각의 이브프로펜 대장체들은 경쟁적 흡착 관계임을 생각하면 각각의 이성질체의 등온 흡착 곡선식을 bi-

Langmuir 식으로 가정할 수 있다.

Competitive bi-Langmuir isotherm[1]을 구하는 흡착실험은 동적 방법 중 pulse method의  $t_R$ (retention time)과  $dq/dC$ 관계[2]를 사용하였다. 주입농도는 라세미 이브프로펜 20 mg/ml, 이동상유속은 1.5 ml/min로 고정하고 gradient mode를 이용하여 이동상 내에 라세미 이브프로펜의 농도를 1 mg/ml-5.5 mg/ml로 0.5 mg/ml씩 증가시켜 체류시간의 변화를 측정하였다. 주입농도의 변화와 체류시간의 상관관계식을 얻기 위하여 isocratic mode에서 주입농도를 0.00016925 g/ml-0.23695 g/ml로 증가시켜 체류시간의 변화를 측정하였고, 이동상 유속변화와 체류시간의 상관관계는 isocratic mode에서 0.1 ml/min-10 ml/min까지 유속을 증가하여 실험을 수행하였다. 이동상 조성비 변화와 체류시간의 상관관계는 gradient mode에서 조성비의 변화에 따라 크로마토그램의 기준선이 안정화되는 시간을 확인한 후 실험을 수행하였다.

### 4. 결과 및 고찰

라세미 이브프로펜을 키랄 고정상을 이용하여 분리한 후 분리된 각각의 이성질체들의 등온흡착 매개변수를 구할 목적으로 동적 흡착방법을 수행하였다. 동적 방법에 의해서 등온흡착 곡선을 구하는 경우 흡착질과 흡착제 사이에 물질전달의 영향이 존재하게된다. Fig. 1은 물질전달에 영향을 줄 수 있는 주입부피, 이동상 유속, 이동상의 조성비 변화와 같은 실험조건을 일정하게 유지하고 분리를 목적으로 하는 라세미 이브프로펜의 농도만을 변화시켜 구해진 크로마토그램이다. Fig. 1로부터 증가된 시료의 농도에 대한 이브프로펜 대장체들의 체류시간을 알 수 있다. 그림에 나타나지 못 할 정도로 미세하였지만 라세미 이브프로펜의 주입농도가 0.0003385 g/ml과 0.0016925 g/ml사이에서는 체류시간이 6.57 min으로 동일하게 나타났다. 이로부터 선형크로마토그래피 영역이 예측 가능하였다. 식 (2)와 (3)에서 알 수 있듯이 체류시간은 dead time이 실험을 통해 구해지면 용량인자로 표현될 수 있으며 용량인자는 물질수지식으로부터 이브프로펜 대장체의 고정상과 이동상에서의 질량비로 나타내어짐을 알 수 있다. 시료의 주입부피가 10  $\mu$ l이고 이동상 유속이 1 ml/min이므로 시료의 주입시간은 1/1,000 min으로서 매우 작은 시간임을 알 수 있다. 이것은 식 (3)에서 용량인자가  $dC_s/dC_m$ 로 표현되어지는 것을 타당하게 해준다. 이렇게 나타내어진 식 (3)에서  $C_m$ 과  $C_s$ 는 비선형 관계식으로 표현됨으로 이식을 비선형 최소자승법으로 풀면 Langmuir 식의 흡착 매개변수 a와 b값을 직접 구할 수 있게된다. 이 방

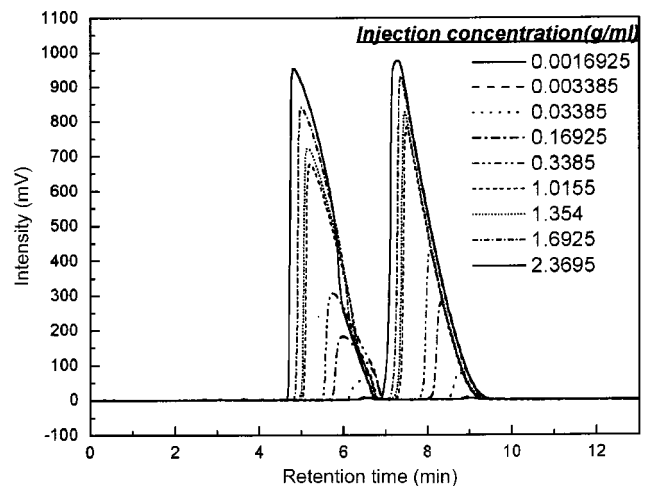


Fig. 1. Elution profiles of Ibuprofen with increase of input concentration for Kromasil® CSP. Eluent flow rate of 1 ml/min, eluent composition of hexane/tert-butylmethyl ether/acetic acid(75/25/0.1%).

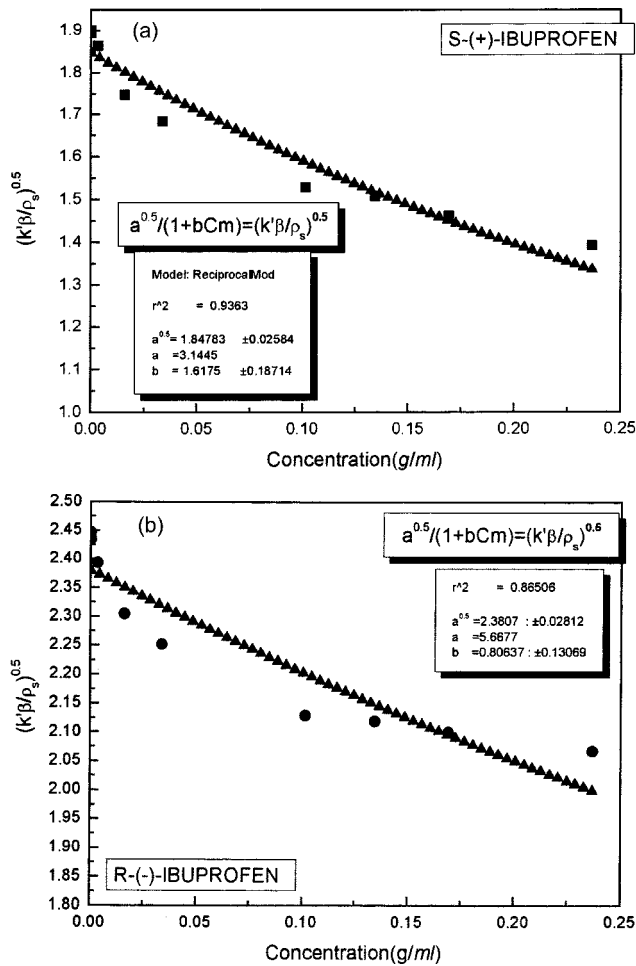


Fig. 2. (a)  $(k'\beta/\rho_s)^{0.5}$  vs.  $C_m$  plot of S-(+)-Ibuprofen for determination of Langmuir isotherm parameters, (b)  $(k'\beta/\rho_s)^{0.5}$  vs.  $C_m$  plot of R-(-)-Ibuprofen for determination of Langmuir isotherm parameters.

법으로 라세미 이브프로펜이 키랄 고정상 칼럼을 통해 분리된 S-(+)-Ibuprofen과 R-(-)-Ibuprofen은 각각의 흡착평형 매개변수를 NLSF하여 Fig. 2(a)와 (b)에 나타내었다. fitting값의 정확도는 결정계수( $r^2$ )로 나타내었다.

Fig. 2(a)와 (b)의 결정계수는 각각 0.936, 0.865로서 실험데이터로부터 fitting값이 약간 오차가 있음을 알 수 있다. 실험데이터로부터 오차를 줄이기 위해서 시행오차적 방법을 사용하였다. Fig. 3(a)와 (b)에  $C_m$ 과  $C_s$ 를 NLSF하여 구한 흡착 매개변수  $a$ 와  $b$ 를 나타내었다. Fig. 3에 표시되어진  $C_s$  데이터 값들은 선형 크로마토그래피에서 흡착 매개변수  $a$ 값이 가정되어졌고 이 값을 식 (3)에 대입하여 흡착 매개변수  $b$ 값들이 직접 구해졌다. 이 값은  $C_m$ 값들에 대해서 각각 다른 흡착 매개변수  $b$ 값으로부터  $C_s$ 값들이 구해진 것이다. 이 데이터 값은 각각 다른 식으로부터 유도된 값들로서 이런 방법을 통해 실험데이터와의 오차를 최소화할 수 있었다. Fig. 3의  $r^2$ 값이 Fig. 2의  $r^2$  값보다 1에 근접함으로써 흡착매개변수값을 구하는데 두 번째 방법이 새로운 방법으로 유용하게 적용될 수 있음을 알 수 있었다.

Fig. 4에서는 식 (6)에서 실험으로부터 구한  $dq_i/dC_i$ 와 실험에 사용된  $C_i$ 값을 식 (5)로부터 유추된 competitive bi-Langmuir isotherm의 미분식을 모델로 사용하여 비선형 최소자승법으로 fitting한 것을 나타내었다. 결정계수( $r^2$ )가 0.99843으로 첫 번째와 두 번째 fitting결과보다 정확하

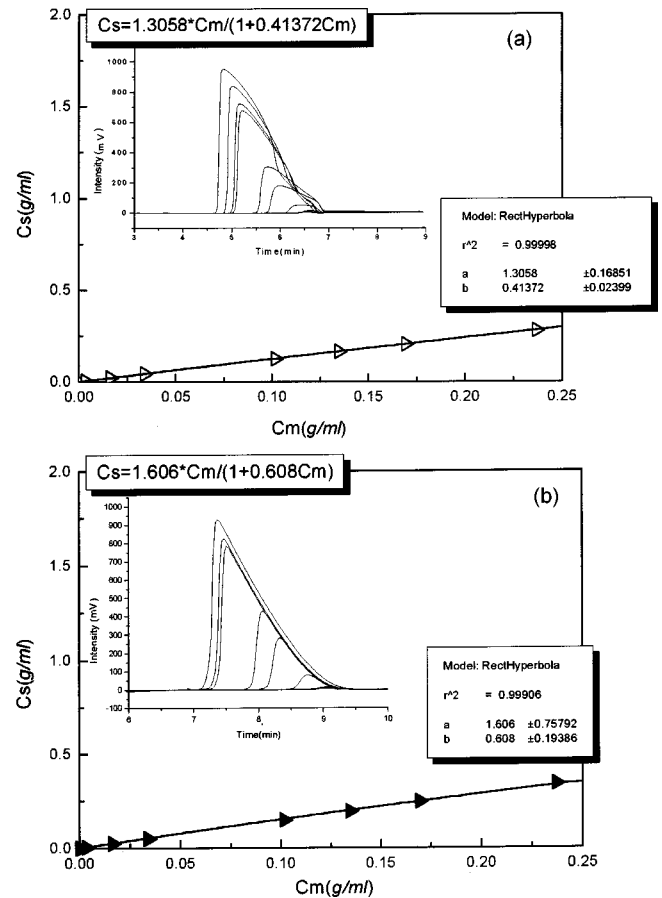


Fig. 3. (a)  $C_s$  vs.  $C_m$  plot of S-(+)-Ibuprofen for determination of Langmuir isotherm parameters, (b)  $C_s$  vs.  $C_m$  plot of R-(-)-Ibuprofen for determination of Langmuir isotherm parameters.

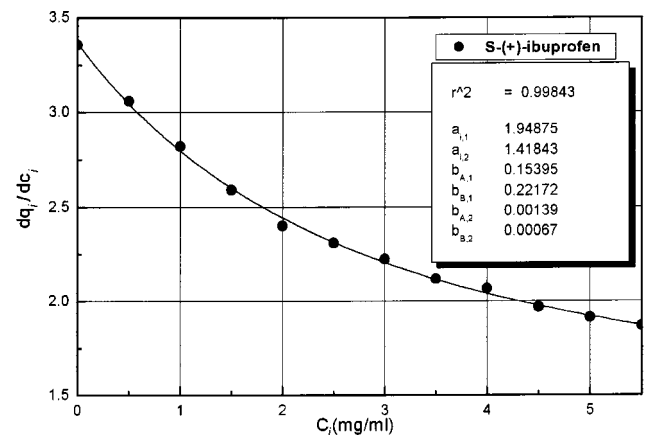


Fig. 4.  $C_i$  vs.  $dq_i/dC_i$  plot for determination of competitive bi-Langmuir isotherm parameters.

였고 이로부터 유추된 등온흡착식의 매개변수 값을 구할 수 있었다. 그 결과 S-(+)-Ibuprofen의 등온 흡착곡선식은 Fig. 5로 나타내어지고 등온 흡착식은 식 (7)과 같다.

$$q_i = \frac{1.94875C_i}{1 + 0.15395C_A + 0.22172C_B} + \frac{1.41843C_i}{1 + 0.00139C_A + 0.00067C_B} \quad (7)$$

Fig. 6에서는 이동상 유속이 0.1 ml/min-10 ml/min로 증가시켰을 때 체류시간이 감소하는 상관관계식[4]을 나타내었고 적용된 식은 아래에 있

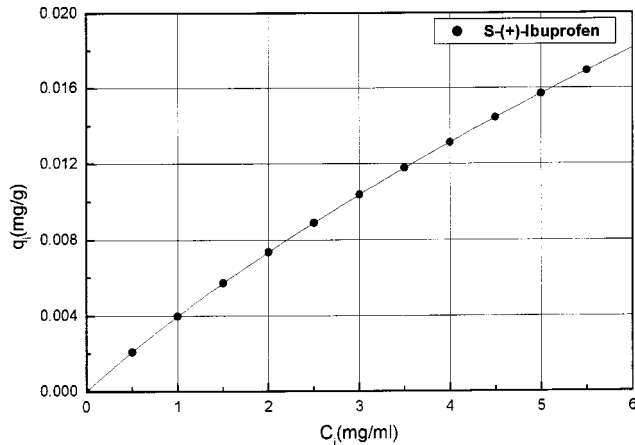


Fig. 5. Competitive bi-Langmuir isotherm for S-(+)-Ibuprofen.

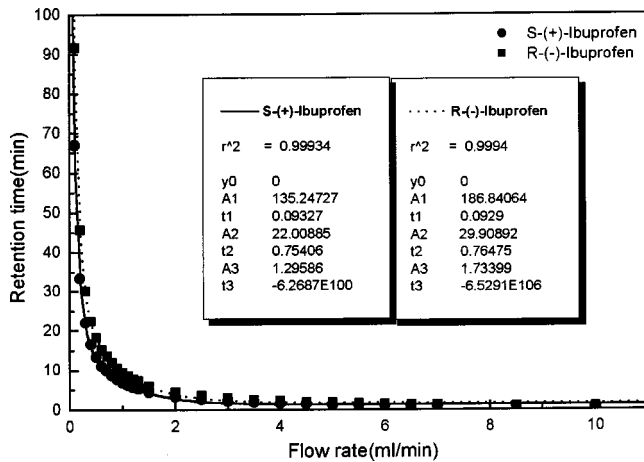


Fig. 6. Retention time vs. flow rate plots for determination of correlation equation.

다.  $r^2$ 가 0.999이상으로 매우 정확한 관계식을 얻을 수 있었다. 이 관계식은 시간에 따른 유속을 변화시키는 gradient program의 작성에 사용되면 원하는 시간대 얻고자하는 peak를 검출할 수 있으며 원치 않는 peak의 체류시간을 증가시켜 분리도를 증가시키는데 유용하게 사용될 것으로 예측된다.

$$R_t = y_0 + A_1 \exp(-x/t_1) + A_2 \exp(-x/t_2) + A_3 \exp(-x/t_3) \quad (8)$$

여기서  $x$ 는 이동상 유속을 나타낸다. Fig. 7에서는 이동상(hexane/tert-butyl-methyl ether/acetic acid)에서 acetic acid를 0.1%로 일정하게 하고 tert-butylmethyl ether의 조성비를 증가하였을 때 S-(+)-Ibuprofen과 R-(-)-Ibuprofen의 체류시간이 감소하는 관계식을 NLSF하여 나타내었다. S-(+)-Ibuprofen과 R-(-)-Ibuprofen의  $r^2$ 는 각각 0.99996과 0.9976이다. 용액내의 hexane의 조성비의 변화가 5-90%로 변화함에 따라 S-(+)-Ibuprofen의 체류시간은 11.6분에서 3.1분으로 R-(-)-Ibuprofen은 17.4분에서 3.4분으로 감소됨을 알 수 있었다. 이 결과로부터 용매변화에 따른 정확한 체류시간을 정확히 예측할 수 있고 시간에 따른 이동상속도 변화와 함께 적절한 이동상 조성비의 변화는 라세미 이브프로펜의 향상된 분리도를 얻을 수 있을 것이다. Fig. 8에는 일정유속(1 ml/min)과 일정용매비(hexane/tert-butylmethyl ether/acetic acid: 75/25/0.1)에서 주입농도의 증가(0.00016925 g/ml-0.23695 g/ml)에 따른 체류시간의 감소를 상관관계식으로 나타내었다. 주입농도가 증가함에 따라 변화는 작지만 체류시간이 일정하게 감소하는 것을 알 수 있으나 Fig. 9에서 알

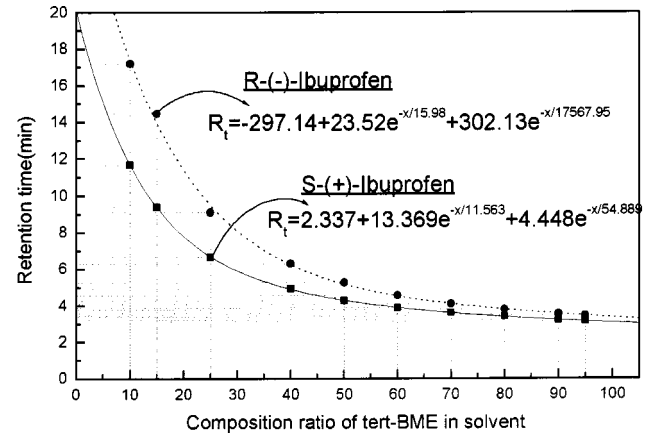


Fig. 7. Retention time vs. composition ratio of tert-butyl methyl ether in solvent plot for determination of correlation equation.

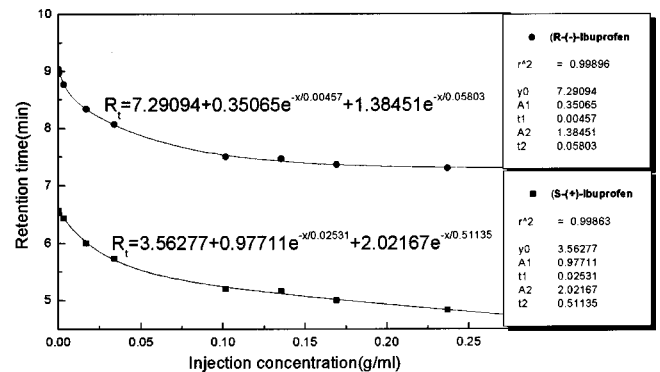


Fig. 8. Retention time vs. injection concentration plots for determination of correlation equation.

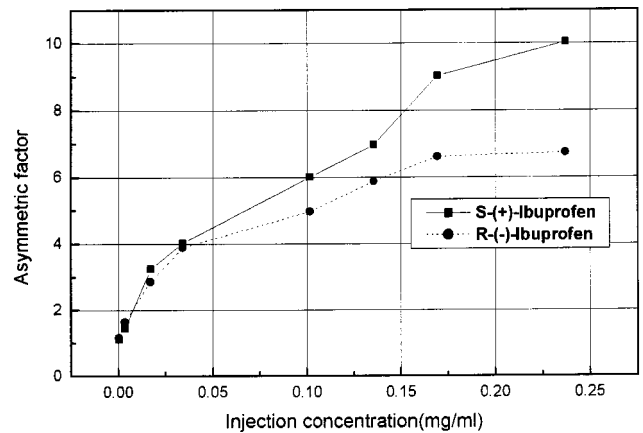


Fig. 9. Effect of the injection concentration on the asymmetric factor.

수 있듯이 농도의 증가가 비대칭도를 증가시킴으로 여기서 감소된 체류시간의 변화로는 등온흡착식을 구하는데 사용하기에 부적합하다는 것을 알 수 있었다.

## 5. 결 론

본 연구에서는 고부가가치를 갖고 있는 거울상 이성질체 의약품인 라세미 이브프로펜을 키랄 고정상을 이용하여 단일 거울 이성질체로 광학분할하기 위한 실험을 수행하였다. 산업용 크로마토그래피 기술과 연속운전을 모사하는 크로마토그래피 기술을 개발하기 위한 기초 연구가

되도록 하기 위하여 그에 맞는 실험 조건을 규명한 실험을 수행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) S-(+)-Ibuprofen의 competitive bi-Langmuir isotherm

$$q_i = \frac{1.94875C_i}{1 + 0.15395C_A + 0.22172C_B} + \frac{1.41843C_i}{1 + 0.00139C_A + 0.00067C_B} \quad (9)$$

(2) 이동상(hexane/tert-butyl methyl ether/acetic acid) 조성과 체류시간(min) 사이의 상관관계식(acetic acid 0.1% 고정)

S-(+)-Ibuprofen	R-(-)-Ibuprofen
$R_f = 2.337 + 13.369 \exp(-x/11.563) + 4.448 \exp(-x/54.889)$ (x는 이동상중에 tert-BME의 조성비)	$R_f = -297.14 + 23.52 \exp(-x/15.98) + 302.13 \exp(-x/17567.95)$ (x는 이동상중에 tert-BME의 조성비)
$R_f = 0.0582 \exp(-x/18.1371) + 3.2172$ (x는 이동상중에 n-hexane의 조성비)	$R_f = 0.0927 \exp(-x/18.05012) + 3.4487$ (x는 이동상중에 n-hexane의 조성비)

(3) 이동상 유속(ml/min)과 체류시간(min) 사이의 상관관계식

S-(+)-Ibuprofen	R-(-)-Ibuprofen
$R_f = 135.25 \exp(-x/0.09327) + 22.009 \exp(-x/0.754) + 1.2959 \exp(-x/-6.268E100)$	$R_f = 186.84 \exp(-x/0.0929) + 29.91 \exp(-x/0.7648) + 1.734 \exp(-x/-6.529E106)$

(4) 주입농도(g/min)와 체류시간(min) 사이의 상관관계식

S-(+)-Ibuprofen	R-(-)-Ibuprofen
$R_f = 3.56277 + 0.97711 \exp(-x/0.02531) + 2.02167 \exp(-x/0.51135)$	$R_f = 7.29094 + 0.35065 \exp(-x/0.00457) + 1.38451 \exp(-x/0.05803)$

위 결과로부터 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 키랄 의약품의 광학분할 과정에서 이동상 유속, 이동상 조성비, 주입 농도와 같은 조업 조건의 변화가 분리하고자 하는 물질의 체류시간 사이에 정확한 상관관계식을 나타내는 것을 알 수 있었고, 여기서 얻어진 관계식을 시간에 따라 변화시킨다면 원하는 시간에 크로마토그램을 얻을 수 있을 뿐만 아니라 분리도를 향상시키는데 유용한 자료가 될 것으로 사료된다.

## 사용기호

$R_S$  : resolution  
 $t_R$  : retention time [min]

$t_0$  : dead time [min]  
 $M_m$  : amount of solute in the mobile phase  
 $M_S$  : amount of solute in the stationary phase  
 $w$  : bandwidth [min]  
 $\kappa'$  : retention factor  
 $C_m$  : concentration of the solute in the mobile phase  
 $C_s$  : concentration of the solute in the stationary phase  
 $\beta$  : rate of variation of the modifier concentration in gradient elution, phase ratio  
 $\rho_s$  : density of the mobile phase  
 $r^2$  : regression coefficient, correlation coefficient  
 $F$  : phase ratio

## 참고문헌

1. Renato, R. and Massimo, M.: *Ind. Eng. Chem. Res.*, **35**, 199(1996).
2. Jana, J. and John, F.: *J. Chromatography*, **316**, 53(1984).
3. Song, T. H., Suh, S. S., Kim, Y. D., Lee, J. K. and Park, D.: *HWA-HAK KONGHAK*, **38**, 373(2000).
4. Thomas, E. B. and Raymond, P. W. S.: "Chiral Chromatography," Chapter 8(1998).
5. Hyun, M. H.: "Separation of Optical Isomer by LC," Min-Um Sa, Seoul, Chapter 2(1996).
6. Guiochon, G., Shirazi, S. G. and Katti, A. M.: "Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography," Academic Press, Inc., London, Chapter 3(1994).
7. Ganetsos, G. and Barker, P. E.: "Preparative and Production Scale Chromatography," Marcel Dekker, New York, Chapter 6(1992).
8. Subramanian, G.: "A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography," VCH Verlagsgesellschaft mbH, New York(1994).
9. Pryde, A. and Gilbert, M. T.: "Applications of High Performance Liquid Chromatography," Chapman and Hall, London(1979).
10. Hamilton, R. J. and Sewell, P. A.: "Introduction to High Performance Liquid Chromatography," second edition, Chapman and Hall, London (1982).
11. Krstulovic, A. M.: "Chiral Separation by HPLC," Ellis Horwood Ltd., Paris(1989).
12. Ratkowsky, D. A.: "Handbook of Nonlinear Regression Models," Marcel Dekker(1990).