

# 擬似移動層によるフラバノン光学異性体の分離

勝山 洋一\*

上村 芳三\*\*

吉田 昌弘\*\*

幡手 泰雄\*\*

## SERARATION OF FLAVANONE ENANTIOMERS BY SIMULATED MOVING BED (SMB) PROCESS

Hirokazu KATSUYAMA, Yoshimitsu UEMURA, Masahiro YOSHIDA  
and Yasuo HATATE

Chromatographic separations are an expanding technology for the separation of high value products, particularly in the area of pharmaceuticals, food, and fine chemicals. The simulated moving bed (SMB) process as a continuous chromatographic separation process is an interesting alternative to conventional batch chromatography, and gained more and more impact recently. In this paper, flavanone enantiomers were separated by simulated moving bed process. The best purities of the products obtained were 100% for the raffinate and 82% for the extract.

**Keywords:** simulated moving bed, enantioseparation, chromatography

### 1. 緒言

#### 1. 1 背景

近年、さまざまな分野で光学活性体の需要が高まっている。特に医薬分野では、新薬開発において光学活性体が利用または開発されている。新薬開発のおおまかな過程は、初期段階（薬効、薬理試験）、中期段階（臨床試験）、そして承認である。一般に新薬

を市場に出すまでの期間は、5～10年である。そのため、開発段階での評価用の光学活性サンプルの迅速な入手も新薬の開発における重要な要因の1つである。

本研究では、エナンチオマーによる工業規模の光学活性体生産手段の1つとして注目されている擬似移動層法(SMB法; Simulated Moving Bed Process)の検討を行った。この方法を用いて flavanone (フラバノン) の分離を行った。SMB法の特徴は、次節で詳細に説明するように二成分の分離に適しており、供給と抜き出しが連続的に行える点<sup>1)</sup>である。また、単カラムにおける光学異性体の分離と比較し

---

2003年8月31日受理

\* 博士前期課程応用化学工学専攻

\*\* 応用化学工学科

て、SMB 法では溶離液の使用量が大幅に削減できる。このような特徴から、フラバノンのエナンチオマーを R 体、S 体の二成分に分離する方法として SMB 法が適している。

## 1. 2 SMB 法の原理

SMB 法を説明するために、まず、移動層モデル (TMB; True Moving Bed) を説明し、その後、TMB 法と比較しながら SMB 法を説明する。図 1 に概念図を示す。

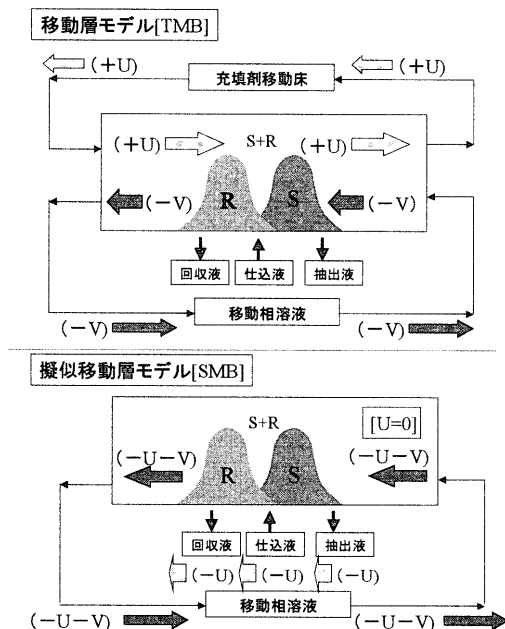


図 1 上段の TMB モデルの説明をする。充填剤を移動させることが可能であると仮定し、カラム内を充填剤が左から右へ速度  $+U$  で、移動相溶液が右から左へ速度  $-V$  の向流循環である。ここで、カラム中央部からラセミ体を連続的に注入すると充填剤との相互作用の強い光学活性成分 (ここでは S 体) は充填剤に吸着され、次々と右方向へ移動し、右方向から逆向きに流れてくる移動相溶液の一部とともに抽

出液 (エキストラクト; **Extract**) として系外に連続的に取り出される。一方、充填剤との吸着力の弱い光学活性体 (ここでは R 体) は移動相溶液により左方向に流され、回収液 (ラフィネート; **Raffinate**) として移動相溶液とともに系外に抜き取られる。

しかし、現実には充填剤を移動させることは不可能である。そこで、図 1 に示した TMB 法において充填剤の移動速度を「0」にした場合  $[+U=0]$  (停止状態) を想定する。TMB 法において液の出し入れ口は動かないので、充填剤、移動相、液の出し入れ口の 3 者間に「 $+U$ 、 $-V$ 、0」という相対速度が設定されている。これを「充填剤移動速度=0、移動相溶液移動速度= $-U-V$ 、液の出し入れ口= $-U$ 」と言う条件に変更すれば上記の 3 者間に TMB モデルと同じ相対速度が再現され、TMB 法で得られるのと同様の分離効果が期待される。つまり、溶液の流れ方向に順次液の出し入れ口を切り替えていくことで擬似的な移動床の流れを作り出すのです。

なお、溶離液の供給口と抽出液の抜き出し口の間を「Zone I」、抽出液の抜き出し口と仕込液の供給口の間を「Zone II」、仕込液の供給口と回収液の抜き出し口の間を「Zone III」、回収液の抜き出し口と溶離液の供給口の間を「Zone IV」と呼ぶ。図 2 に示すように、各 Zone の流量を  $Q_j$  とし、溶離液、抽出液、仕込液、回収液のそれぞれ供給量、抜き出し量を  $F_{EI}$ 、 $F_E$ 、 $F_F$ 、 $F_R$  とする。これらは、下の (1) 式の関係にある。図 3 に実際の SMB 装置内での濃度分布の経時変化とその時の液の出し入れ口の切り替えを示します。

$$\begin{aligned} Q_I &= F_{EI} \\ Q_{II} &= F_{EI} - F_E = Q_I - F_E \\ Q_{III} &= F_{EI} - F_E + F_F = Q_{II} + F_F \\ Q_{IV} &= F_{EI} - F_E + F_F - F_R = Q_{III} - F_R = F_{Re} \end{aligned} \quad (1)$$

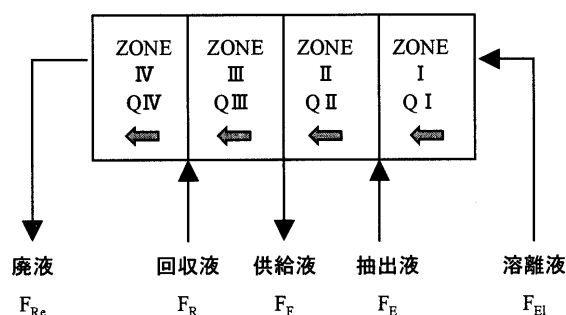


図2 SMB装置の模式図

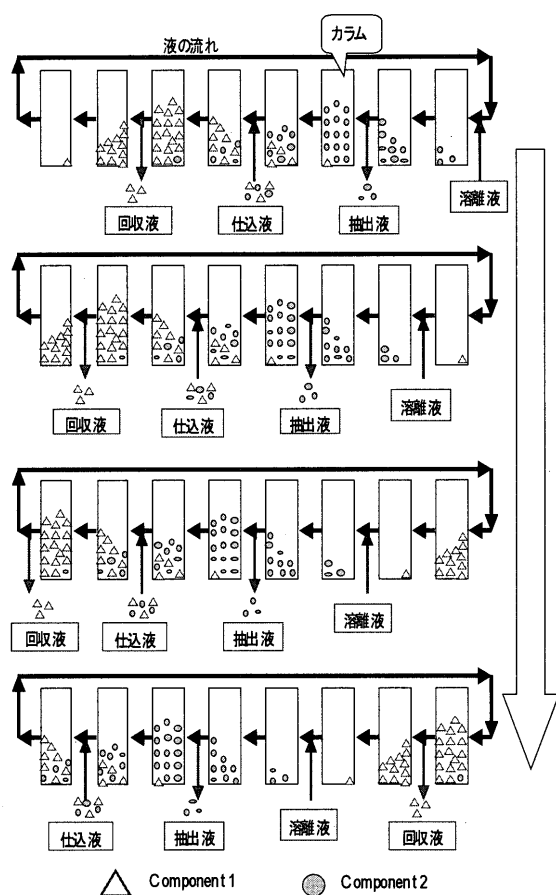


図3 濃度分布の経時変化

### 1. 3 目的

SMB 分離条件には、多くの決定すべき条件があり、しかも相互に関連があるため、条件を変更して最適化を図るには時間かかり、非常に難しい。そのため、文献などでは、主にSMB分離条件の決定方法として、以下のような方法を用いている。

- ① 平衡と拡散係数を用いて解析解を求める方法<sup>2)</sup>。
- ② 吸着平衡から $m_2/m_3$ グラフを作成し、そのグラフから条件を決定する方法<sup>3)</sup>。

これらを簡単に説明する。①は物質収支式をもとにSMB 分離条件を決定する方法である。この場合、吸着平衡が線形、且つ、軸方向拡散係数を無視した場合には、解析解が存在する。吸着平衡が非線形の場合は、コンピュータで数値解を求める。②は吸着平衡を測定しヘンリー定数を求め、その値から $m_2/m_3$ グラフ作成する。 $m_2/m_3$ グラフで示される三角の領域に $m_2$ 、 $m_3$ の値が来るように各 Zone の流量を決定する方法である。

本研究では、過負荷状態のクロマトグラムからSMB 分離条件の決定する方法（以下、過負荷クロマトグラム法）を用いた。この方法は、まだ文献等において発表されていない方法である。そのため、本研究では過負荷クロマトグラム法の有効性の検討を目的として実験を行った。

## 2. 実験装置と方法

### 2. 1 SMB 実験装置

図4に本研究で使用したSMB装置の概略図を示す。8本のカラムを円環状に配列し、溶離液、抽出液、仕込液、回収液、廃液の各タンクとカラムとの接続配管の途中に八方バルブを配した装置である。5つの八方バルブを一定時間ごとに同時に切り替えることによって、各供給、抜き取り口をカラム一本ずつ溶液流れ方向に切り替えていく。

図4中の各番号の説明は以下のとおりである。①カラム (Daicel chiralpak AD : 25[cm]×1[cm]φ)、②八方バルブ (GL Science : SV 5008AS)、③溶離液タンク、④抽出液タンク、⑤仕込液タンク、⑥回収液タンク、⑦廃液タンク、⑧ポンプ (Jasco : 887-PU、Shimadzu : LC-9A)、⑨システムコントローラー。Daicel chiralpak AD は、シリカゲルに

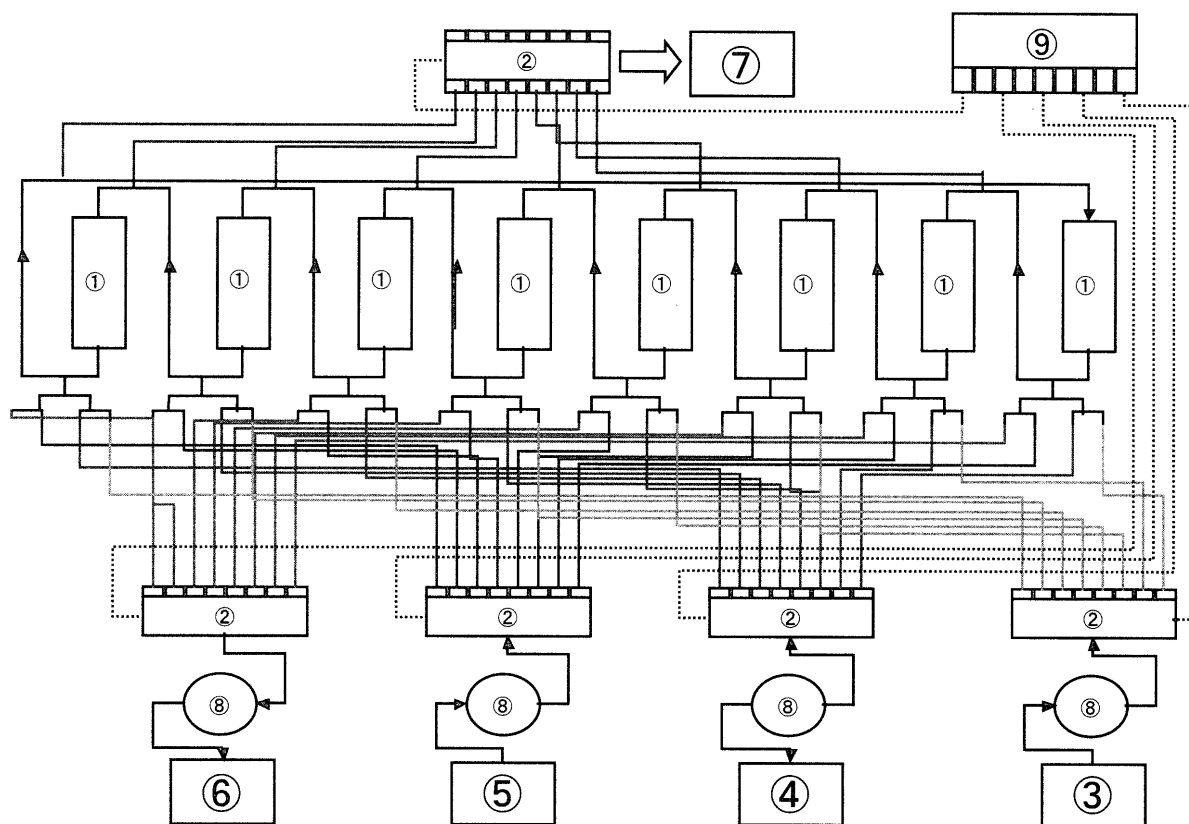


図 4 S M B 装 置 図

アミロース誘導体を修飾させたもので、本研究では  $20[\mu\text{m}]$  の粒径のものを使用した。

## 2. 2 過負荷クロマトグラム法

過負荷クロマトグラム法は、図 5 に示すような過負荷状態のクロマトグラムから 5 つのパラメーター ( $T_s$  ; ピーク始まり、 $T_1$  ; 最初のピークトップ、 $T_v$  ; 2 つのピークトップの谷間、 $T_2$  ; 2 つ目のピークトップ、 $T_e$  ; ピーク終わり) を抽出する。

そして、これらのパラメーターから Zone 流量 :  $Q_j$  と切り替え時間 :  $t$ 、仕込液流量 :  $F_F$  を決定する。実際の操作パラメーターは各抜き出し、供給の流量であるが、(1) 式より Zone 流量より算出できる。以下に、その計算式を示す。

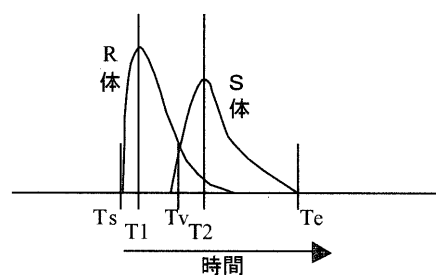


図 5 過負荷クロマトグラム模式図

### 1) Feed 流速の計算

$T_e$ 、 $T_s$  から時間当たりの注入回数を算出する。

$$60 / (T_e - T_s) \quad [1/h] \quad (2)$$

HPLC 装置と SMB 装置のカラム体積比、HPL

C分離のときの溶質注入量： $C_H M$  [mg]、時間当たりの注入回数よりSMB装置での時間当たりの注入量を算出する。

$$2 \left\{ C_H M \frac{60}{T_e - T_s} \frac{nV_s}{V_H} \right\} \quad [mg/h] \quad (3)$$

SMB装置での時間当たりの注入量を設定濃度で割り、時間をhからminに直し、Feedポンプの流速を決定する。

$$F_F = \frac{2 \left\{ C_H M \frac{60}{T_e - T_s} \frac{nV_s}{V_H} \right\}}{60 \times C_F} \quad [ml/min] \quad (4)$$

## 2) Zone IV流速の計算

HPLC装置とSMB装置の一本当たりのカラム体積比、HPLC分離のときの流速、 $T_s$  から Zone IV でピークが出始めるまでの液量を算出する。

$$\nu T_s \frac{V_s}{V_H} \quad [ml] \quad (5)$$

これを $T_v$ で割り、最大流速を算出し、その80%をZone IV流速として決定する。

$$Q_{IV} = 0.8 \nu T_s \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} \quad [ml/min] \quad (6)$$

## 3) Zone II, III平均流速の計算

HPLC装置とSMB装置の一本当たりのカラム体積比、HPLC分離のときの流速 $T_1$ 、 $T_2$  から Zone II, III でピークトップの液量を算出する。

$$\nu T_1 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H}, \nu T_2 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} \quad [ml] \quad (7)$$

これより Zone II, III の平均流速を算出し、(1)式の関係より Zone II, III それぞれの流速を決定する。

$$Q_{II} = \frac{1}{2} \left\{ \nu T_1 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} + \nu T_2 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} \right\} - \frac{F_F}{2} \quad [ml/min] \quad (8)$$

$$Q_{III} = \frac{1}{2} \left\{ \nu T_1 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} + \nu T_2 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} \right\} + \frac{F_F}{2} \quad [ml/min]$$

## 4) Zone I 流速の計算

HPLC装置とSMB装置の一本当たりのカラム体積比、HPLC分離のときの流速、 $T_e$  から Zone I でピーク終わりまでの液量を算出する。

$$\nu T_e \frac{V_s}{V_H} \quad [ml] \quad (9)$$

これを $T_v$ で割り、最小流速を算出し、その1.2倍の流速をZone I 流速として決定する。

$$Q_I = 1.2 \nu T_e \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} \quad [ml/min] \quad (10)$$

## 5) 切り替え時間の計算

$T_v$ をHPLC装置とSMB装置の一本当たりのカラム体積比とZone II, IIIの平均流速で補正し、決定する。

$$t = \nu T_v \frac{V_s}{V_H} \left/ \left\{ \frac{1}{2} \left( \nu T_1 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} + \nu T_2 \frac{1}{T_v} \frac{V_s}{V_H} \right) \right\} \right. \quad [min] \quad (11)$$

## 2. 3 実験方法

以下に、本研究における実験方法を示す。

- 1) 試料を過負荷状態（エナンチオマーの2つのピークが重なり、谷間の高さがピーク高さの半分程度）でHPLCを用いて分離する。
- 2) 過負荷状態でのクロマトグラムからパラメーターを抽出する。
- 3) 抽出したパラメーターより1.3の計算式を使用してSMB分離条件を決定する。
- 4) SMB装置で分離実験を実施する。抽出液、回収液、廃液の各溶液を回収し、HPLCで各溶液のR体、S体の濃度を測定し、光学純度を算出する。
- 5) 分離が完全でない場合、4)の測定結果より系内の濃度分布を推定し、条件の変更を行う。
- 6) 目標の光学純度、濃度が得られるまで手順4)、5)を繰り返す。

本研究で使用したフラバノン、キラル固定相の不斉識別能力の評価のためにしばしば用いられるサンプルであり、メタノールやエタノール移動相でDaicel

chiralpak AD で完全分割し、この移動相へ高い溶解性を示す。また、公表された SMB 分離実験データは見当たらない。その構造式を図 6 に示す。

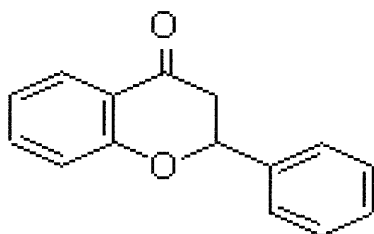


図 6 フラバノンの構造式

### 3. 実験結果と考察

フラバノン 50[g/l] (溶媒：エタノール) を HPLC (40[°C]、1.0[ml/min]) で分離したクロマトグラムを過負荷クロマトグラムとし、パラメーターを抽出した。その時のクロマトグラムを図 7 に、抽出したパラメーターを表 1 に示す。

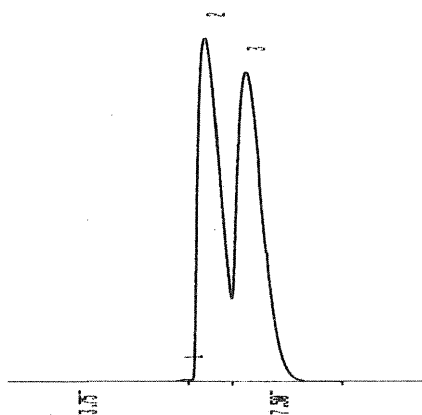


図 7 過負荷状態のクロマトグラム

表 1 抽出パラメーター

ピーク開始 (T <sub>S</sub> )	5.58
R 体ピーク (T <sub>R</sub> )	6.33
ピークの谷間 (T <sub>V</sub> )	6.75
S 体ピーク (T <sub>S</sub> )	7.11
ピーク終了 (T <sub>E</sub> )	10.35

これらのパラメーターより 2.2 の計算式を用いて SMB 分離条件を決定した。溶離液：エタノール、仕込液濃度 50[g/l]、温度 40[°C] で SMB 分離を行った。SMB 分離結果を参考にしてその次の操作条件を変更し、光学純度の向上を計った。分離条件は、切り替え時間を 3.0[min] に固定し、供給と抜き出しの各流量のみを変更した。表 2 に分離条件を示す。

表 2 SMB 分離条件

Run No	各抜き出し口と供給口の流量[ml/min]			
	溶離液	抽出液	仕込液	回収液
1	19.6	9.2	0.4	3.4
2	24.1	13.7	0.4	3.4
3	19.6	11.2	0.5	4.9
4	19.6	11.2	0.4	5.0
5	21.6	13.2	0.5	5.0
6	19.6	11.7	0.5	4.4
7	19.6	12.2	0.5	4.4
8	21.6	12.7	0.5	5.0
9	21.6	12.0	0.5	5.0
10	20.6	12.4	0.5	5.0
11	20.6	12.4	0.4	5.0

Run No 1 が過負荷クロマトグラムから決定された条件であり、2 以降は分離結果を参考にして変更した操作条件である。図 8 に SMB 分離結果をグラフで示す。グラフ中の OP<sub>R</sub>[ee%] は、回収液 (Raffinate) 中の弱吸着成分 (フラバノンでは R 体) の光学純度であり、OP<sub>S</sub>[ee%] は、抽出液 (Extract) 中の強吸着成分 (フラバノンでは S 体) の光学純度である。定義を以下の (12) 式に示す。

$$OP_R [ee\%] = \left( \frac{C_R - C_S}{C_R + C_S} \right) \quad (12)$$

$$OP_S [ee\%] = \left( \frac{C_S - C_R}{C_R + C_S} \right)$$

1 では光学純度は R 体、S 体ともに低い値であったが、分離結果を参考にして、その次の操作条件を変更し、SMB 分離を行ったところ、3 では光学純度がともに 90[ee%] 近く値にまで達し、10 では R 体の光学純度である OP<sub>R</sub>[ee%] が 100[ee%] の値に達し

た。

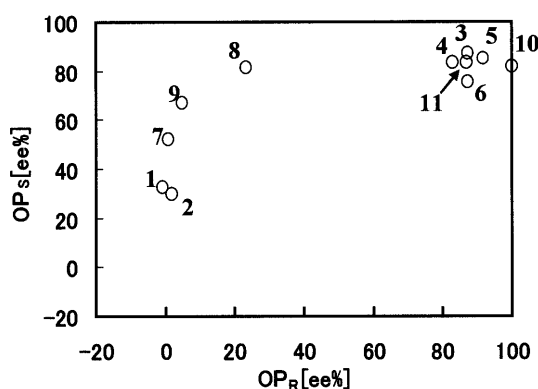


図8 SMB分離結果

#### 4. 結言

本研究では、過負荷クロマトグラムを用いて SMB 分離条件の決定した。初期の SMB 分離条件ではあまりよい結果は得られなかった。そのため、それぞれの分離実験について濃度分布をそれぞれ推定し、条件を変更して分離実験を行った。その結果、第 3 回目選んだ条件で  $OP_R$  が 91.6[ee%]、 $OP_S$  が 84.6[ee%] という光学純度を得た。また、第 10 回目選んだ条件で  $OP_R$  が 100[ee%]、 $OP_S$  が 82.2[ee%] という最も良い光学純度を得た。

#### 謝辞

本研究において、実験装置使用の許可・経済的援助をいただきましたダイセル化学工業（株）に感謝します。

#### 使用記号

$C_F$  : SMB 分離時の仕込液設定濃度[mg/ml]  
 $C_H$  : HPLC 分離時のサンプル濃度[mg/ml]  
 $C_R$  : R 体の濃度[mg/ml]  
 $C_S$  : S 体の濃度[mg/ml]  
 $F_{El}$  : SMB 分離時の溶離液の流速[ml/min]

$F_E$  : SMB 分離時の抽出液の流速[ml/min]  
 $F_F$  : SMB 分離時の仕込液の流速[ml/min]  
 $F_R$  : SMB 分離時の回収液の流速[ml/min]  
 $F_{Re}$  : SMB 分離時の廃液の流速[ml/min]  
 $M$  : HPLC 分離時の溶液注入量[ml]  
 $n$  : SMB 装置のカラム本数[本]  
 $Q_j$  : 各 Zone の流速[ml/min]  
 $t$  : 切り替え時間[min]  
 $V_H$  : HPLC 装置のカラム体積[cm<sup>3</sup>/本]  
 $V_S$  : SMB 装置のカラム体積[cm<sup>3</sup>/本]  
 $v$  : HPLC 分離時の流速[ml/min]

#### 参考文献

- 1) M. Negawa, and F. Shoji, Optical resolution by simulated moving-bed absorption technology, Journal of Chromatography, 590(1), 113-117(1992)
- 2) Luis S. Pais, Jose M. Loureiro and Alirio E. Rodrigues, Separation of 1,1-bi-2-naphthol enantiomers by continuous chromatography in simulated moving bed, Chemical Engineering Science, 52(2), 245-257(1997)
- 3) M. Mazzotti, G. Storti and M. Morbidelli, Optimal operation of simulated moving bed units for nonlinear chromatographic separations, Journal of Chromatography A, 769, 3-24(1997)