

## Technical Review

## 擬似移動床法(SMB法)を用いた光学異性体の分離技術

蓑田 稔治

## Chiral Separation technology by using of Simulated Moving-Bed method.

Toshiharu Minoda

*Daicel Chemical Industries, LTD., 1-1, Shinko-cho, Myoko, Niigata, 944-8550, Japan***Abstract**

Separation of enantiomers using chiral chromatography is a well-accepted technology as a simple and reliable method to determine optical purity of target compounds from R&D to QC in pharmaceutical, agricultural and food industries. Among many commercially available chiral columns, polysaccharide-derived columns are most widely used in the market due to its broad separation ability, and its applicability has been expanded by wide variety of mobile phases for "immobilized" columns which are stable in many organic solvents. The diversity of mobile phases is expected to be very beneficial not only to analytical separations but also to preparative ones, especially industrial scale production using simulated moving-bed (SMB) technique, in terms of productivity of chiral compounds.

In this review, a preparative separation process based on polysaccharide-derived chiral stationary phases (CSPs) and SMB technique is described.

*Keywords:* chiral chromatography, polysaccharide-derived chiral stationary phases (CSPs), immobilized column, simulated moving-bed (SMB)

**1. はじめに**

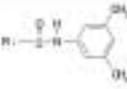
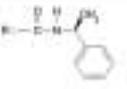
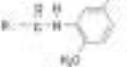
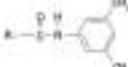
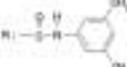
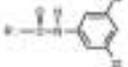
光学異性体分離用充填剤(キラル充填剤)を用いたクロマト法は、医薬、農薬、食品といった分野の研究・開発から工場の品質管理に至るまで、簡便でかつ少量のサンプルで正確に光学純度を測定できる方法として広く普及している。これまでに数多くのキラル充填剤が開発されているが、キラル充填剤には大きく低分子系と高分子系の2種類のキラル固定相(CSP)を用いたものがある。このうち、Okamotoらによるセルロース誘導体の先駆的な検討に端を発した高分子系の多糖誘導体のキラル固定相は、現在、光学分離剤として最も広

く利用されており、Table 1 に示すように多糖をエステルやカルバメート誘導体に誘導体化した多数のCSPがこれまでにカラムとして市販されている[1][2]。

また、最近では多糖誘導体をシリカゲル担体に固定化したタイプの耐溶剤型CSPも実用化されている。従来、多糖誘導体をシリカゲル担体上にコーティングしたタイプの充填剤において使用に制限のあった、酢酸エチル、MTBE、THF、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトンといった溶媒の使用が可能となったことから、移動相溶媒の選択性が飛躍的に向上している。これによって、従来のコーティング型では分

ダイセル化学工業(株) CPIカンパニーライフサイエンス開発センター  
〒944-8550 新潟県妙高市新工町1-1  
Tel: 0255 72 9024  
Fax: 0255 72 7892  
E-mail: to\_minoda@daicel.co.jp

Table 1 Structure of polysaccharide-derived columns.

	Cellulose derivative		Amylose derivative			
						
Coating type	Ester		Carbamate			
	OJ (0.5 μm/10 μm) OJ-H (3 μm) OJ-3 (3 μm)		OD (0.5 μm/10 μm) OD-H (3 μm) OD-3 (3 μm)		AD (0.5 μm/10 μm) AD-H (3 μm) AD-3 (3 μm)	
	OK (10 μm)		OG (3 μm)		AS (10 μm/20 μm) AS-H (3 μm) AS-3 (3 μm)	
	OB (0.5 μm) OB-H (3 μm)		OF (0.5 μm)			
	OA (10 μm)		OC (0.5 μm) OC-H (3 μm)			
Immobilized type			OZ-H (3 μm) OZ-3 (3 μm)		AY-H (3 μm) AY-3 (3 μm)	
			IB (3 μm) IB-3 (3 μm)		IA (3 μm/20 μm) IA-3 (3 μm)	
			IC (3 μm/20 μm) IC-3 (3 μm)			

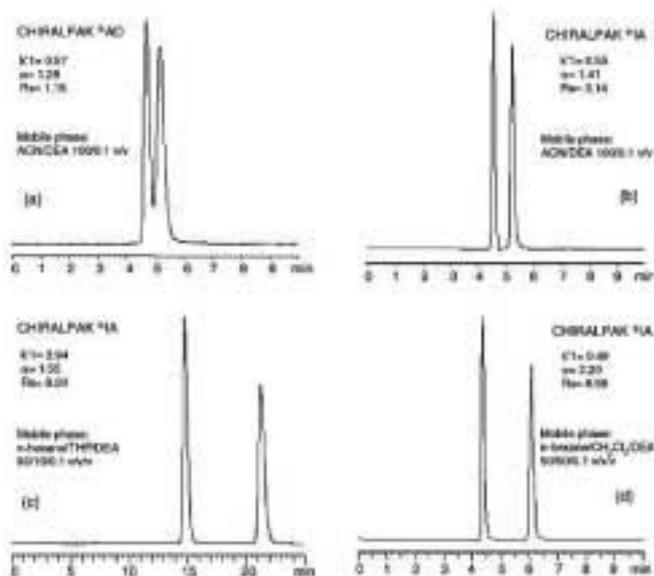


Figure 1 Separation of bupivacaine (2) on CHIRALPAK® AD (a) and CHIRALPAK® IA (b-d). Flow rate: 1.0 ml/min, temperature: 25 °C, detection: 260 nm.

離が困難であった化合物についても良好な分離を達成できるようになった[3]。

一方で、このクロマト法は高純度の光学異性体を生産する方法としても優れている。プロセスが比較的単純でラボスケールからのスケールアップが容易であることから、特に医薬開発の分野において迅速な光学異性体の供給手段として重要な役割を担っている。

以下では、キラル充填剤と特に工業規模での分取に適した擬似移動床法 (SMB 法) とを組み合わせた光学異性体の分離技術について紹介する。

## 2 . SMB 法の概要

クロマト法による物質分離は、物性の似通った、例えば沸点差が小さく蒸留操作による分離が難しい物質において威力を発揮する。工業規模の生産プロセスとしてこの方法を用いるには、分離の操作を回分的でなく連続的に行う方が望ましいが、連続的な分離に適した方法として擬似移動床方式クロマト分離法 (SMB) があげられる。カラムに通液される移動相溶媒の消費量や単位充填剤あたりに換算される分離生産

性といった点において、この方法は回分操作である単カラム法よりも優れている[4]。Francotte らによれば、Formoterol の分離において SMB の単位あたりの生産性が単カラム法の 6.3 倍、Guaifenesin の分離では 2.7 倍になると報告されている[5]。SMB による工業規模の分離例は、1960 年代の Universal Oil Product 社による p-キシレンの分離が最初とされるが[6]、その後、食品分野、特に糖の分離・精製方法として広く普及した[7][8]。

SMB は原理上 2 つの成分を分離する手段として最も威力を発揮する。特に、医薬分野において、光学異性体を入手するための方法として最適である。近年、工業規模での光学分割の実施例が増えており、例えば UCB Pharma において坑てんかん剤 Levetiracetam の分離精製で 100cmφ 径の大型カラムを用いた工業規模での SMB 分離がなされた[9]。

### 3 . SMB 法の原理と運転方式

SMB には、複数のカラムを直列に配列しその両端を接続して無端状にした流路に、原料ラセミ体の溶液を供給するフィード、溶離液を供給するエルエント、吸着の強い光学異性体に富んだ溶液を抜き取るエクストラクト、吸着の弱い光

学異性体に富んだ溶液を抜き取るラフィネートといった供給・抜取口が接続されている。これら供給・抜取口によって、SMB の循環経路を流れる流量は 4 つのゾーンに分けることができる。ここでは、エルエントとエクストラクトとで挟まれた区間をゾーン と定義すると、Figure 2 に示すようにゾーン ~ を決めることができる。

各ゾーンにはそれぞれの役割があるが、分離が行われるのはゾーン とゾーン である。これらゾーンにおいては、吸着の弱い光学異性体が脱離されラフィネート抜取口まで液流れ方向に流れていき、一方で吸着の強い光学異性体は充填剤に吸着されエクストラクト抜取口まで擬似的な充填剤の移動方向に流れていく。言い換えると、ある基準に対して吸着が弱ければ対象となる成分はラフィネート抜取口に多く流出し、吸着が強ければ対象となる成分はエクストラクト抜取口に多く流出するとも言える。分離に関わるゾーン およびゾーン の流量条件の決定では、Morbidelli らが提唱しているトライアングル理論がよく用いられる。これにより、ゾーン の液相速度 / 固相速度の比を x 軸、ゾーン の液相速度 / 固相速度の比を y 軸としたときに、ラフィネート成分の光学純度の限界線とエクストラクト成分の光学純度の限界線で囲まれる 4 つの区域ごとで、分離精製が可能となる条件をそれぞれ図示することができる[10]。

Figure 3 に代表的な 2 種類の SMB 運転方式を示した。一方は、無端状の流路上にリサイクリング（循環）ポンプが設置されたインターナルモードと呼ばれる運転方式であり、もう一方は、無端状の流路上から一旦切り離された位置にロータリーバルブ等を介してリサイクリングポンプが接続されたエクスターナルモードと呼ばれる運転方式である。インターナルモードでは、配管やバルブの接続や構造が簡易である一方で、SMB 系内を移動する流量ゾーンの変化に合わせてリサイクリングポンプの流量を段階的に制御する必要がある。エクスターナルモードでは、流量ゾーンの変化に合わせてリ

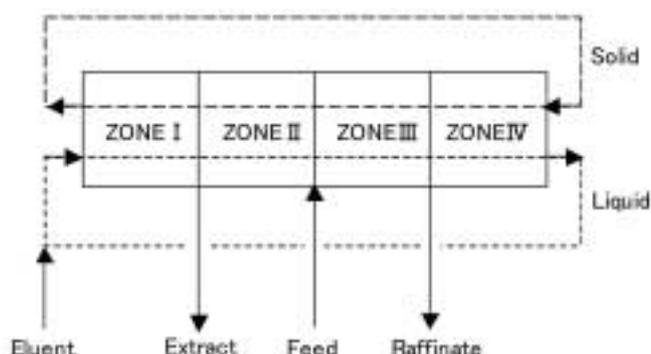


Figure 2 Determination of ZONE I ~ IV

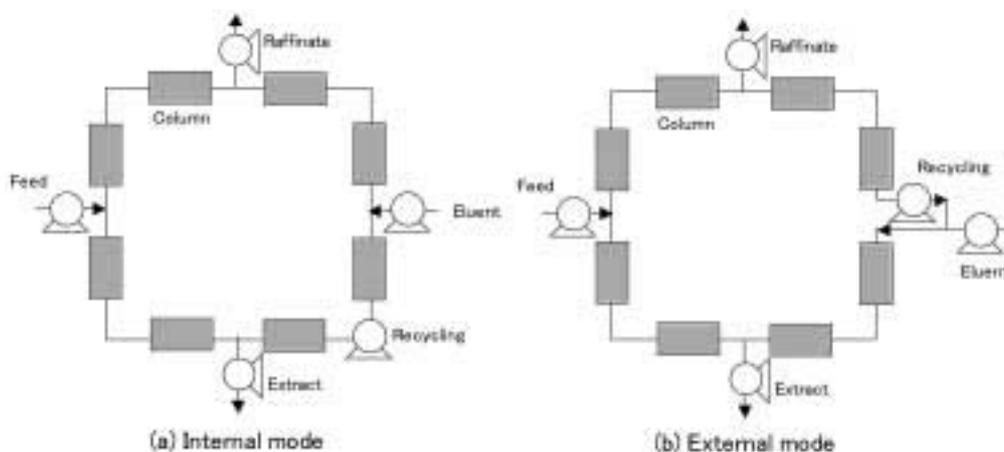


Figure 3 Operation types in the SMB system, (a) Internal mode: Recycling pump fixed with respect to the columns, (b) External mode: Recycling pump fixed with respect to the zones.

サイクリングポンプの位置が移動するため段階的な流量制御の必要はないが、配管やバルブの接続方法に工夫を要する。

#### 4. キラルSMBプロセス開発の流れ

次に、キラルSMBプロセス開発の大まかな流れについて、SMB分離条件の決定、ベンチクラスでの小スケールによる分取、パイロット・工業化検討の順に紹介する。

まず、分離対象となるラセミ体について、キラルカラムと溶離液の組み合わせから最も分離の良い条件を見出すスクリーニングを実施する。特に耐溶剤型CSPカラムを使用する場合には、適用可能な溶媒の種類やその組成の組み合わせが飛躍的に増大するため、スクリーニング装置の自動化等により効率的に実施することがポイントである。

スクリーニングの結果、最適なキラルカラムと溶離液の組み合わせが決定したら、適当な吸着平衡式を仮定して吸着平衡の測定データをもとにして吸着パラメータを算出する。キラルクロマトの吸着平衡式には通常Langmuir式を適用するケースが多い。Langmuir式のような非線形の吸着等温式を用いてSMB分離条件を決定する際には、シミュレーションソフトの利用が便利である。吸着平衡の測定では、回分吸着法や破過法といった方法の他に、一定濃度で吸着平衡にあるカラムに移動相を打ち込むことで外乱を与えてその応答時間を測定するパルス法[11]、カラムに過負荷量のサンプル溶液をインジェクションした際の過負荷クロマトの溶出時間を測定する過負荷クロマト法[12]、パラメータの値を適当に調整して過負荷クロマトの形状に直接フィッティングさせる方法などがある。医薬サンプルのように、比較的高価で検討に使用できる量が限られる場合には、少量のサンプル使用で済む過負荷クロマト法を用いる方法が一般的である。吸着平衡式とパラメータが決定したら、これをもとにして実際のSMB運転立ち上げに必要な流量条件をシミュレーションする。

ここで、上述の方法によりSMB分離条件を決定して実際のSMB製造運転にまで適用したユニークな例を紹介する。このケースにおいては、Figure 4に示すような特徴的な過負荷クロマトピークの形状を示し、ラセミ体の溶液を用いて取

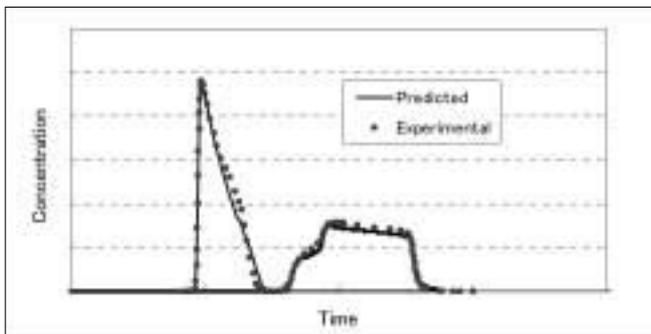


Figure 4 Comparison between observed profile and simulated for non-Langmuir case.

得した破過試験の結果では、Figure 5に示すような濃度を境にして吸着挙動が大きく変化する様子が観察された。一般的に見られるLangmuir型とは異なるこのような特殊な吸着挙動は、例えばトレガー塩基をCHIRALPAK® ADで分離した場合にも観察されることが報告されている[13]。最近のシミュレーション技術の進歩に伴って、このような特殊なケースについてもクロマトの解析やSMBシミュレーションを行うことが可能となっている。ここでは、吸着平衡式に(1)式を仮定して、過負荷クロマトピークの形状への直接フィッティングによって必要なパラメータを決定することができた[14][15]。

$$W_s = \frac{q_1 C (b_1 + 2b_2 C)}{1 + b_1 C + b_2 C^2} + \frac{q_2 b_3 C}{1 + b_3 C} \quad (1)$$

$W_s$ : Solid phase concentration

$C$ : Liquid phase concentration

(1)式および(2)式の修正Langmuir式で表されるような一般的なケースのそれぞれについて、それぞれSMBのダイナミックシミュレーションを行い、SMB系内の内部濃度分布を比較した結果をFigure 6に示した[16]。

$$W_{S1} = b_1 C_1 + \frac{q_1 b_2 C_1}{1 + b_2 C_1 + b_3 C_2} \quad (2)$$

$W_{S1}$ : Solid phase concentration

$C_1, C_2$ : Liquid phase concentration

(1)式のケースではピークフロント部分の濃度変化が急峻であり、またテーリング部分に濃度変化の変曲点が観察された。これより、実際のSMB運転時においてクリティカルな流量条件におけるわずかなプロセスパラメータの変化が、製品の濃度や光学純度に大きく影響を与えることが予想された。このように、シミュレーション検討によってプロセスの

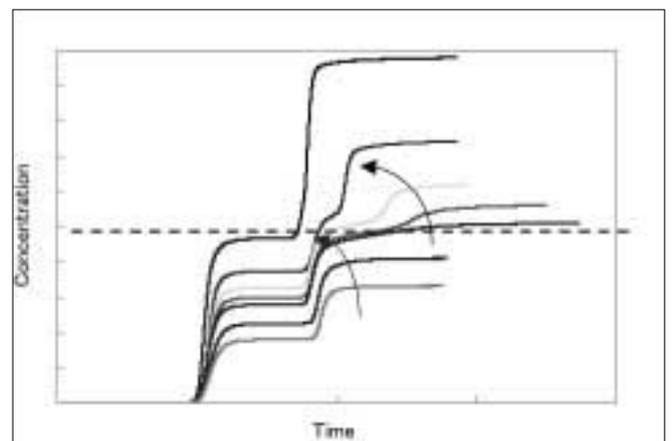


Figure 5 Breakthrough curves for the racemic substance.

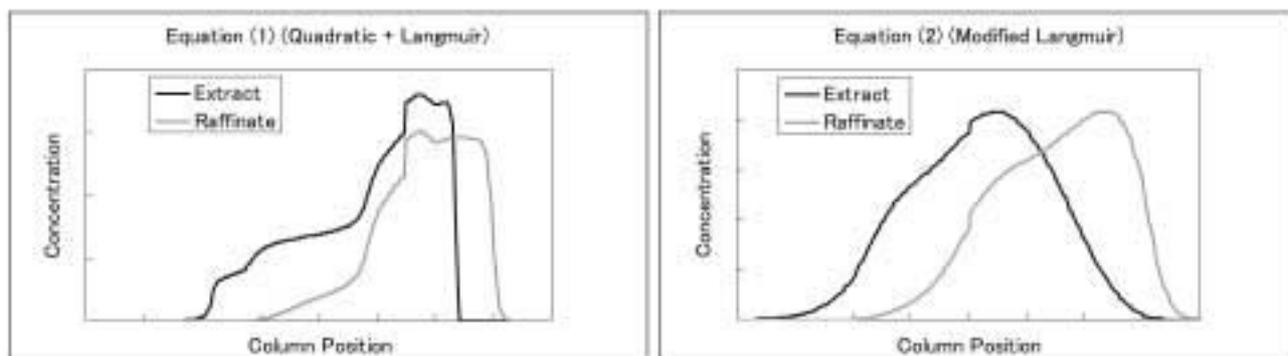


Figure 6 SMB internal concentration profiles with steady-state condition on equation (1) and equation (2) by dynamic simulation technique.



Figure 7 Daicel's lineup of the chiral SMB systems.

安定性や応答性を事前に把握しておくことで、実際の製造におけるトラブルを未然に防ぐことも可能となった。

続いて、シミュレーションで求められた流量条件を参考にして、通常ベンチクラスの小スケールでの SMB 運転をまず実施する。SMB 装置を立ち上げてからしばらくの間は、定期的にエクストラクト、ラフィネートの採取液や SMB 系内の液をサンプリングして、そこに含まれる光学異性体の純度や不純物の時間推移をチェックする。目標とする品質の製品が得られるように、必要に応じてポンプの流量を微調整する。SMB 系内を移動する濃度分布が定常状態に到達した後は、ポンプ流量、カラム温度、系内に投入されるフィードの濃度といった分離に影響を与えるようなプロセスパラメータの推移を時々チェックしながらそのままの流量条件で運転を継続する。

当社においては、ベンチクラスの小スケール分取用に No-vasep 社製の SMB 装置を保有している。この装置は、通常、直径 3 cm ~ 5 cm、充填長 10cm のステンレス製カラムを 6 ~ 12本搭載できる。カラムには粒径 20 $\mu$ m のキラル充填剤を充填したものを使用している。ポンプはフィード、エルメント、ラフィネート、エクストラクト、リサイクリング用に各 1 台ずつが設置され、リサイクリングポンプは流量ゾーンの移動に合わせて段階的に変化をさせる仕様 (インターナルモード) となっている。この装置では、概ね数百 g ~ 数 kg

スケールの光学異性体の分取を想定している。得られた光学異性体を濃縮・乾固するためのエバポレータも設置しており、一連の設備は医薬品開発の段階に合わせて GMP 管理下での運転実施も可能である。

パイロットスケールの SMB 装置では直径 10 ~ 20cm のカラムを使用する。このスケールの設備では、特に臨床段階 (中期 ~ 後期) の光学異性体サンプルを数十 ~ 数百 kg レベルで製造することを想定している。ベンチクラスからパイロット以降へのスケールアップ条件は、基本的にカラムの断面積の比で容易に計算することが可能である。

工業規模の SMB 装置においては直径が 20cm 以上の大型カラムを用いているが、油圧駆動のピストンを利用してカラムの軸方向から充填層を押圧するアキシャルコンプレッション方式のカラムを採用している点が特徴的である。充填剤を充填する場合には、専用のスラリータンクで調製した充填剤のスラリーをカラム内部に直接投入して充填を行うことが可能である。当社で保有するベンチプラント、パイロットプラントおよび商業プラント SMB の外観を Figure 7 に示した。

工業規模のスケールになると SMB で使用する溶媒の回収はコスト面から必須である。流下薄膜式蒸発器 (FFE) 等の濃縮設備において SMB から抜き取られた液を濃縮する一方で、留出された溶媒については専用タンクに一旦回収後に品質をチェックし、問題がなければ再度 SMB 移動相としてリ

サイクルされる。耐溶剤型 CSP が実用化されたことで使用できる溶媒のバリエーションが増えた。これにより分離条件を最適化して SMB 生産性を向上させる可能性が増したが、移動相の組成が3成分以上となるケースもあり、一旦使用した移動相溶媒を効率良く回収できるシステムの構築が重要となっている。例えば、分離対象となる化合物が塩基性を示すような場合、移動相中に第3成分として微量のアミンを添加

するケースなどが想定される。従来、タンク内の溶媒の組成を誘電率センサーで検知して移動相組成を調整するシステムが実用化されていたが、この方法は、ノルマルヘキサンとIPAのように比誘電率の差が比較的大きい2種類の溶媒からなる移動相組成の調整のみを対象としていた[17]。このため、当社において特に2成分以上からなる移動相組成の調整に適した方法として、Figure 8 に示すような近赤外分光分析

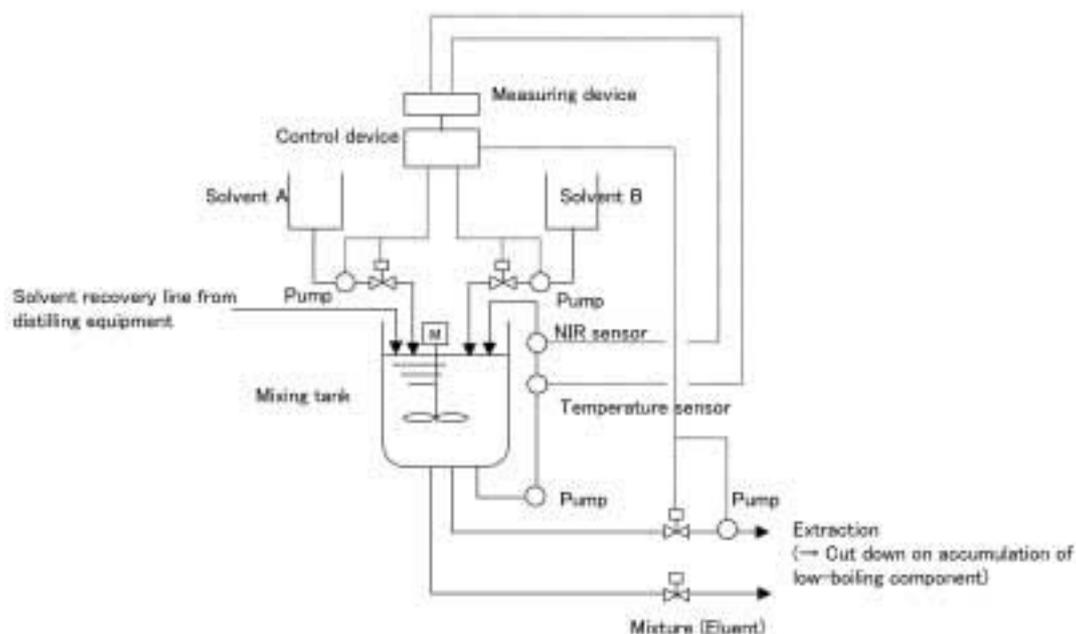


Figure 8 Outline of the solvent recovery system by using of a NIR sensor.

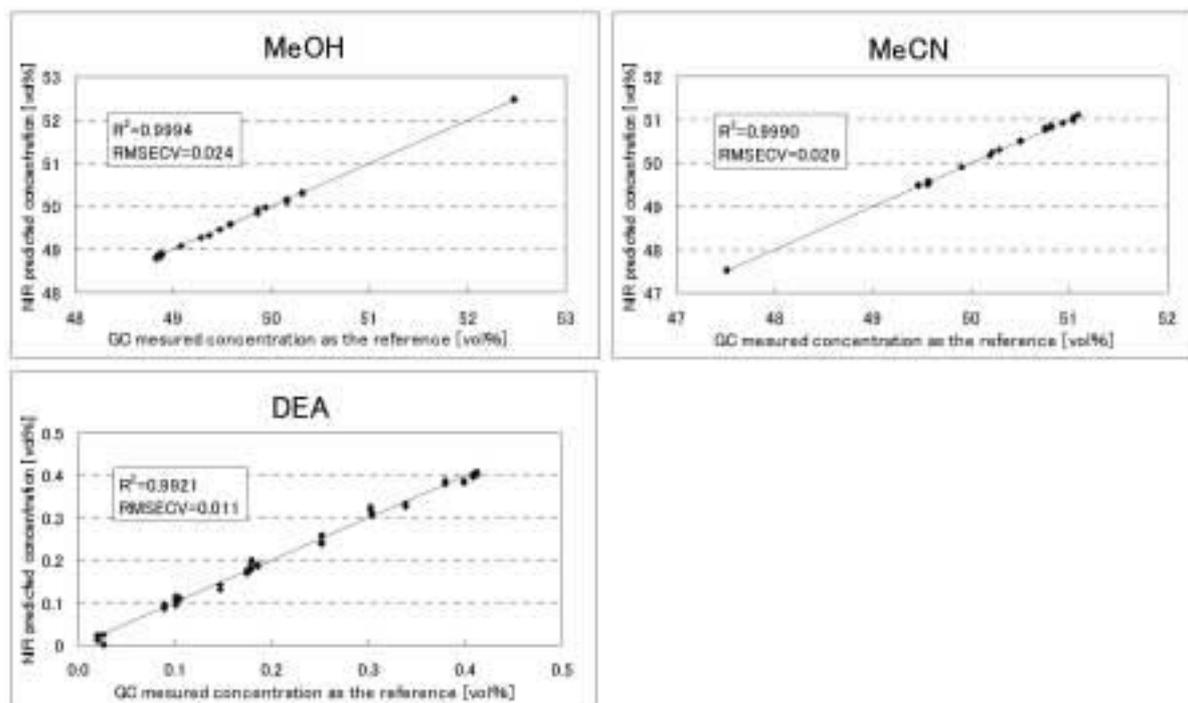


Figure 9 Reference values (solvent concentration) versus near-infrared predicted values of MeOH, MeCN and DEA in the mixture.

(NIR) センサーを利用した溶剤回収システムを新たに開発した。この方法によれば、例えばメタノールとアセトニトリルからなる混合溶媒にさらに第3成分として微量のジエチルアミンや酢酸を添加したケースについても、それぞれの溶媒濃度を測定して組成を調整することが可能となる[18]。MeOHとMeCNについて49~51vol%、DEAについて0.1~0.3vol%程度の濃度範囲となるように、実験計画法的に3成分の濃度を振った14検体のサンプルについて、プロセスNIR (FT型近赤外分光光度計: Bruker Optics社製 MATRIX) を用いて各成分のスペクトルデータを取得して回帰分析を行った結果を Figure 9 に示した。これより、GC分析値とNIR測定値がよい相関を示し、特に微量成分であるジエチルアミンの定量分析も可能であることがわかった。従来、工業規模でのSMB運転で溶媒回収がネックとなって移動相組成の最適化を断念していたケースがあったが、この技術によって使用可能な溶媒のバリエーションが広がった。

## 5. おわりに

多糖誘導体をシリカゲル担体に固定化した耐溶剤型CSPの登場によって、分析クロマトの分野ばかりでなく分取クロマトの分野においても、分取生産性の向上に向けた選択肢が一気に広がった。最近、耐溶剤型CSPをSMBに適用した例として、CHIRALPAK® IAを使用してGluthetimideを分離したところ、従来の平均的なSMBの生産性と比較して約10倍となることが紹介されている[19]。また、従来は解析が難しくSMBへの適用が困難であった特異的な吸着挙動を示す化合物や複数の不純物を含む化合物について、近年のコンピュータを用いたシミュレーション技術の進歩によって、その挙動の解析やSMBでの運転条件検討が可能となりつつある。さらに、溶媒回収がボトルネックとなってこれまで使用の制限があった溶媒の種類や組成についても、新たな技術の導入によってバリエーションが広まったことで、分離の最適化を行うことが可能となった。

今後は、多糖誘導体の秘めた可能性を最大限に引き出すべ

く、充填剤、移動相、SMB、付帯装置を含めたシステム全体の最適化という視点がますます重要となるだろう。

## 参考文献

- [1] E. Yashima, Y. Okamoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 68 (1995) 3289.
- [2] 鏡原泰広, *分離技術*, 39 (2), 27 (2009)
- [3] T. Zhang, C. Kientzy, P. Franco, A. Ohnishi, Y. Kagamihara, H. Kurosawa, *J. Chromatogr. A*, 1075, (2005) 65.
- [4] 牧野成夫, 八浪哲二, *分離技術*, 26 (6), 15 (1996)
- [5] E. R. Francotte, P. Richert, *J. Chromatogr. A*, 769, 101 (1997)
- [6] D. B. Broughton, US Pat. 02985589 (1961)
- [7] 松田文彦, *フードケミカル*, 8, 80 (1992)
- [8] 高崎義幸, *工業技術*, 2, 47 (1986)
- [9] G. B. Cox, *Preparative Enantioselective Chromatography*, p 254, Blackwell Publishing (2005)
- [10] M. Mazzoti, M. Morbidelli, *J. Chromatogr. A*, 769, 3 (1997)
- [11] C. N. Reilly, G. P. Hildebrand, J. W. Ashley, Jr., *Anal. Chem.* 34 (1962) 1198
- [12] A. Felinger, A. Cavazzini, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A*, 986, 207 (2003)
- [13] K. Muhlbachler, K. Kaczmarek, A. Seidel-Morgenstern, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A*, 955 (2002) 35-52
- [14] Moustapha Diack and Georges Guiochon, *Anal. Chem.* 1991, 63, 2608-2613
- [15] K. Akita, presented at PREP 2009, Philadelphia, USA
- [16] G. Subramanian, *Chiral Separation Techniques*, p262, WILEY-VCH publishing (2001)
- [17] J. Blehaut, R.-M. Nicoud, *Analysis Magazine*, 26 (7), 60 (1998)
- [18] 特開2006 84457 (ダイセル化学工業)
- [19] P. Franco, presented at SPICA 2006, Innsbruck, Austria