

주목 식물세포(*Taxus chinensis*)배양으로부터 파클리탁셀 정제를 위한 흡착제 처리 공정 최적화

이충기 · 김진현[†]

공주대학교 화학공학부
331-717 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2014년 2월 19일 접수, 2014년 3월 21일 수정본 접수, 2014년 3월 23일 채택)

Optimization of Adsorbent Treatment Process for the Purification of Paclitaxel from Plant Cell Cultures of *Taxus chinensis*

Chung-Gi Lee and Jin-Hyun Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 1223-24 Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan, Chungnam 331-717, Korea
(Received 19 February 2014; Received in revised form 21 March 2014; accepted 23 March 2014)

요 약

바이오매스 유래 타르 및 왁스 성분은 파클리탁셀의 분리정제에 많은 악영향을 미치기 때문에 반드시 제거되어야 한다. 흡착제 처리는 식물세포배양으로부터 유래된 타르 및 왁스 성분을 매우 간단하고 효과적으로 제거할 수 있는 방법이다. 본 연구에서는 전처리 단계에서 상용흡착제 실로푸트를 이용한 흡착제 처리 공정에서 주요 공정 변수들(온도, 시간, 용매, 건조시료/실로푸트 비율)을 최적화하였다. 최적의 흡착제 처리 온도, 시간, 용매, 건조시료/실로푸트 비율은 각각 30 °C, 15분, 메틸렌 클로라이드, 1:1(w/w)이었다. 이러한 결과는 TGA와 HPLC 분석을 통한 유기물의 흡착 양상으로도 확인하였다. 흡착제 처리 단계에서 순도 증가는 미미하였으나 타르 및 왁스 성분의 제거로 인한 후속공정의 공정 가능성과 편리성에 상당히 영향을 미쳤다.

Abstract – Biomass-derived tar and waxy compounds have a highly negative effect on the separation and purification of paclitaxel and should be removed prior to final purification. Adsorbent treatment is a simple, efficient method for removal of tar and waxy compounds from plant cell cultures. In this study, we optimized the important process parameters (adsorption temperature, time, solvent type and adsorbent amount) of adsorbent treatment with Sylopute to remove the tar and waxy compounds in a pre-purification step. The optimal adsorption temperature, adsorption time, solvent type, and crude extract/Sylopute ratio were 30 °C, 15 min, methylene chloride, and 1:1(w/w), respectively. This result could be confirmed by HPLC analysis of the adsorbent after treatment and TGA of the organic substances that were bound to the adsorbent. In adsorbent treatment step, the purity seemed to show a small improvement but this treatment had a significant effect on convenience and feasibility of following steps by the removal of tar and waxy compounds.

Key words: Paclitaxel, Adsorbent Treatment, Process Parameter, Optimization, Sylopute

1. 서 론

파클리탁셀(paclitaxel) (Fig. 1)은 주목(yew tree)의 표피에서 발견된 디테르페노이드(diterpenoid) 계열의 항암물질로 난소암, 유방암, 카포시 종양(Kaposi's sarcoma), 비소세포성 폐암(non-small cell lung cancer, NSCLC) 치료에 대해 미국 식품의약국(food and drug administration, FDA) 허가를 취득하여 현재 가장 많이 사용되고 있

는 항암제이다. 또한 류마티스성 관절염, 알츠하이머 치료 등의 적용증이 계속 확대되고 있으며, 여러 다른 치료 방법들과의 복합처방에 관한 임상시험이 진행 중에 있어 향후 파클리탁셀의 수요는 계속 늘어날 전망이다[1]. 파클리탁셀의 주요 생산방법으로는 주목나무에서 직접 추출하는 방법[2], 주목나무의 잎에서 전구체(baccatin III, 10-decetylbaccatin III, 10-deacetylpaclitaxel 등)를 얻어 side chain을 화학적으로 결합하는 반합성 방법[3], 주목나무에서 캘러스(callus)를 유도하고 종균배양(seed culture)을 거쳐 주배양기(main bioreactor)에서 식물세포배양을 하여 얻는 방법이 있다[4,5]. 직접 추출과 반합성 방법은 원료의 지속적인 공급이 어렵고 추출/정제에도 많은 어려움이 있으며 환경보호수인 주목나무의 보호에도 적합하지 않은 방식이다. 식물세포배양법은 기후, 환경 등의 외부 인자에 의한 영향을 받지 않

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jinhyun@kongju.ac.kr

이 논문은 공주대학교 박균영 교수의 정년을 기념하여 투고되었습니다. This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

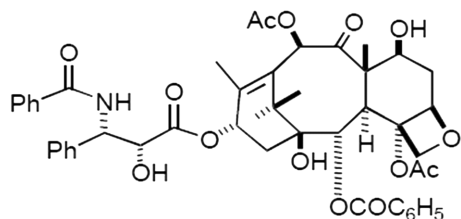


Fig. 1. The chemical structure of paclitaxel.

고 생물반응기 내에서 안정적으로 생산이 가능하기 때문에 일정한 품질의 파클리탁셀을 대량 생산할 수 있다는 장점이 있다.

식물세포배양에 의한 파클리탁셀의 분리 및 정제는 여러 단계의 추출 및 정제 공정을 거쳐 높은 순도(>98%)의 제품을 생산하게 된다. 일반적으로 분리 및 정제 과정은 원료인 바이오매스(파클리탁셀을 함유한 식물세포)로부터 파클리탁셀을 먼저 유기용매로 추출하고, 전처리 공정을 거쳐 최종 정제를 통하여 제품을 생산하는 공정으로 이루어져 있다. 이 과정에서 특히 전처리 공정은 최종 정제 비용에 많은 영향을 미친다[6]. 기존 문헌에 보고된 공정 중에는 정제를 위한 전처리 공정으로 고가의 크로마토그래피를 이용하고 있거나 전처리 없이 추출을 거친 크루드파클리탁셀(crude paclitaxel)을 high performance liquid chromatography (HPLC)에 의해서 바로 최종 정제하여 경제성 측면에서 많은 문제가 있으며 또한 scale-up 및 산업적 대량생산에도 많은 어려움이 따른다. 대체로 바이오매스로부터 유기용매를 이용하여 파클리탁셀을 추출하면 순도는 0.5% 정도이며, 간단한 전처리 공정 후에도 10% 이하의 순도로 매우 낮다. 이러한 시료를 바로 HPLC에 의하여 최종 정제할 경우 많은 양의 유기용매 사용, 칼럼 충전제(resin)의 수명 단축, 처리량 감소 등 상당히 비경제적이며 대량 생산을 위한 공정으로는 적합하지 않다. 따라서 전처리 공정을 통하여 시료의 순도를 가능하면 높여(>50%)주어야 최종 정제, 특히 HPLC를 이용한 정제에서의 비용을 줄일 수 있다[7-10].

전처리 과정에는 흡착제 처리(adsorbent treatment) 및 침전(precipitation)에 의한 전처리로 고순도의 크루드파클리탁셀을 얻을 수 있는 방법이 보고되어 있다[11-13]. 식물유래 타르 및 왁스 성분을 흡착제 처리로 제거한 후에 침전 공정에 의하여 고순도(>60%)의 크루드파클리탁셀을 얻을 수 있어 매우 간단하고 편리하게 전처리 할 수 있는 방법이다. 기존 문헌 보고에 의하면 짙은 색과 타르 및 왁스 성분 제거를 위해 여러 가지 상용흡착제를 사용하여 파클리탁셀의 전처리 공정에 이용하였다. 2002년 활성백토(active clay), 차콜(charcoal)을 전처리 공정인 흡착제 처리에 이용하였으며[11], 2004년 여러 종류의 활성백토(F-1, P-1, P-1G), 활성탄(activated carbon CA-1, SX-PLUS), 차콜을 흡착제 처리에 이용하였다[12]. 2005년에는 활성백토(F-1), 실로퓨트(sylopute), 활성탄을 이용하여 흡착제 처리를 수행하였는데, 이 중 실로퓨트가 다른 흡착제들보다 짙은 색과 타르 및 왁스성분의 제거에 우수하였으며, 흡착제 처리 후 여과속도가 빨라 가장 효과적임을 알 수 있었다[13]. 하지만 파클리탁셀 전처리를 위한 흡착제 처리 공정에서 상용흡착제 실로퓨트의 우수성은 입증되었지만 흡착제 처리 공정에서의 주요 공정 변수인 흡착제 처리 온도, 시간, 건조시료/실로퓨트 비율(crude extract/sylopute ratio), 용매에 대한 체계적이고 종합적인 최적화는 이루어지지 않은 실정이다. 흡착제 처리 공정에서 주요 공정 변수인 흡착제 처리 온도, 시간, 건조시료/실로퓨트 비율로 각각 40 °C, 20분, 1:0.5(w/w) [11], 40 °C, 30분, 1:0.5(w/w)

[12,14-16], 상온(room temperature), 30분, 1:1.5(w/w) [13], 40 °C, 30분, 1:2.0(w/w) [17] 등이 보고되었다. 이와 같이 흡착제 처리 조건에 대해 많이 보고되기는 하였지만 흡착제 처리 공정에서의 주요 공정 변수들이 체계적으로 최적화되지는 못한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 상용흡착제 실로퓨트를 이용한 흡착제 처리 공정에서 주요 공정 변수들(온도, 시간, 건조시료/실로퓨트 비율, 용매)에 의한 흡착 효율을 조사하여 실로퓨트를 이용한 흡착제 처리의 최적 조업 조건을 제안하고자 하였다.

2. 실험

2-1. 식물재료 및 배양조건

본 실험에 사용된 식물세포배양액은 *Taxus chinensis*의 잎으로부터 얻은 세포주(cell line)를 이용하여 배양하였다. *Taxus chinensis*로부터 기원된 현탁액 세포는 24 °C 암조건에서 150 rpm으로 교반하여 배양하였다. 현탁(suspension) 세포는 수정된 Gamborg's B5 배지[18], 30 g/l sucrose, 10 mM naphthalene acetic acid, 0.2 mM 6-benzylamino purine, 1 g/l casein hydrolysate, 1 g/l 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid에서 배양하였다. 세포 배양은 2주마다 새로운 배지(medium)로 갈아주었으며 생산과 배양을 연장시키기 위해 7일과 21일째 되는 날에 1~2%의 maltose를 첨가해 주고 elicitor로서 배양초기에 4 mM의 AgNO₃를 첨가해 주었다. 식물세포배양 후 배양액으로부터 decanter (Westfalia, CA150 Clarifying Decanter)와 고속원심분리기(α -Laval, BTPX205GD-35CDEEP)를 이용하여 식물세포와 세포조각(cell debris)을 회수하였다. 회수한 식물세포와 세포조각을 합하여 바이오매스라 하였다. 본 연구에 사용된 바이오매스는 ㈜삼양제넥스로부터 제공받았다.

2-2. 시료 준비

식물세포배양액으로부터 회수한 바이오매스와 메탄올의 비율을 1:1(w/v)로 하여 상온(room temperature)에서 30분 동안 추출하여 여과하고, 바이오매스에 새로운 메탄올을 첨가하여 동일한 방법으로 4회 반복하여 추출하였다. 메탄올 추출액을 농축기(CCA-1100, EYELA, Japan)에서 감압상태 하에 농축(원액의 30%)하고 메틸렌 클로라이드를 첨가(농축액의 25%)하여 상온에서 30분 동안 교반 후 정체시켜 상 분리를 유도하였다. 극성불순물이 포함된 상층의 메탄올 층을 제거한 후, 하층인 메틸렌 클로라이드 층은 회수하여 농축기를 이용하여 감압상태에서 농축/건조하였다. 건조된 시료의 순도는 4.87%이었다.

2-3. 흡착제 처리

건조된 시료(순도: 4.87%)를 메틸렌 클로라이드에 20%(v/w) 비율로 녹이고 상용흡착제 실로퓨트(Fuji Silysia Chemical Ltd., Japan)를 첨가하여 실험을 수행하였다. 조업조건 최적화를 위하여, 흡착제 처리 온도는 25, 30, 35, 40 °C, 흡착제 처리 시간은 5, 10, 15, 20 분, 건조시료/실로퓨트 비율은 1:0.5, 1:1, 1:1.5(w/w), 흡착제 처리 용매는 메틸렌 클로라이드, 톨루엔, 메탄올, 아세톤으로 각각 변화시켰다. 흡착제 처리 후 여과하였으며 여과액은 30 °C, 감압상태에서 건조하여 후속 공정인 핵산 침전에 이용하였다.

2-4. 핵산 침전

실로퓨트를 이용한 흡착제 처리에서 공정변수에 의한 영향을 확

인하기 위하여 후속 공정으로 hexan 침전을 수행하였다. 흡착제 처리 후 건조된 시료를 메틸렌 클로라이드에 녹여 hexan(n-hexane)에 떨어뜨려(메틸렌 클로라이드/hexan = 1/10, v/v) 침전을 유도하였다. hexan 침전 후 여과를 통하여 얻어진 침전물을 35 °C에서 24시간 진공 건조하였으며, 건조된 침전물을 HPLC 분석을 통하여 파클리탁셀 순도와 수율을 측정하여 흡착제 처리 공정에서 각각의 공정 변수에 따른 영향을 조사하였다.

2-5. 파클리탁셀 분석

파클리탁셀 함량 분석을 위해 HPLC 시스템(Waters, USA)과 Capell Pak C₁₈(250 × 4.6 mm, Shiseido, Japan) 칼럼을 사용하였다. 이동상은 증류수와 아세트니트릴 혼합용액(65/35~35/65, v/v, 구배용매조성법)을 유속 1.0 ml/min으로 흘려주었다. 시료 주입량은 20 µl이며 227 nm에서 UV에 의해 검출하였다[19]. HPLC 분석은 표준정량곡선을 이용하였으며 표준시료는 Sigma-Aldrich 제품(순도: 95%)을 사용하였다.

2-6. TGA 분석

열중량분석(Thermogravimetric analysis, SDTQ600, Shimadzu, Japan)을 사용하여 용매에 따른 흡착제 처리 후 실로푸트에 붙어있는 불순물(유기물) 및 파클리탁셀의 양을 측정하였다. 온도를 변화시키에 따른 무게의 변화를 측정하여 유기물의 양을 정량 분석하였으며 공기를 주입하고 온도는 800 °C까지 변화시켰다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 흡착제 처리 온도의 영향

흡착제 처리는 매우 간단하고 편리하게 시료로부터 짙은 색깔, 타르 및 왁스 성분 등의 불순물을 제거할 수 있어 후속 공정인 hexan 침전 및 분별 침전에서 높은 공정 효율을 기대할 수 있다[12,14]. 기존 문헌에 의하면 특히 상용흡착제인 실로푸트는 다른 흡착제인 활성백토, 활성탄, 차콜 보다 타르 및 왁스 성분의 제거효율이 뛰어나며 후속 공정인 hexan 침전과 분별 침전의 효율 증대에도 많은 영향을 미치는 것으로 보고되었다[13]. 하지만 상용흡착제 실로푸트를 이용한 흡착제 처리에서 공정 변수가 체계적으로 최적화 되지 않아 효율적 흡착제 처리에 한계가 있었다. 따라서 본 연구에서는 이러한 문제점을 개선하기 위해 흡착제 처리에서의 주요 공정 변수를 변화시켜 실험을 수행하였다. 먼저 흡착제 처리 온도에 대한 영향을 조사하기 위하여, 건조시료(순도: 4.87%)에 유기용매 메틸렌 클로라이드, 조업시간 30 분, 건조시료/실로푸트 비율 1:1(w/w)로 고정하고 흡착제 처리 온도를 25, 30, 35, 40 °C로 변화시켜 흡착제 처리한 후 후속 공정인 hexan 침전을 수행하여 흡착제 처리 효과를 조사하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 흡착제 처리 온도가 증가할수록 파클리탁셀 수율이 점점 증가하는 경향을 보였으며, 수율은 25, 30, 35, 40 °C에서 각각 56.7, 67.7, 71.5, 71.8%를 나타내었다. 흡착제 처리 온도 25 °C와 30 °C 사이에서 큰 폭으로 수율이 증가하였으며, 30 °C 이후부터는 수율 증가가 미미하였다. 이러한 결과는 활성백토의 경우 25 °C에서 보다 30~40 °C에서 더 높은 불순물 제거 효과뿐만 아니라 높은 수율을 얻을 수 있는 기존 문헌보고[11]와 유사한 경향을 보임을 알 수 있었다. 또한 파클리탁셀 순도는 25, 30, 35, 40 °C에서 각각 12.6, 21.5, 18.7, 19%로 25 °C에서 보다 30~40 °C에서 높은 순도를 보였으며 30 °C 이후부터는 순도의 차이는 매우 미미하였다. 흡착제 처

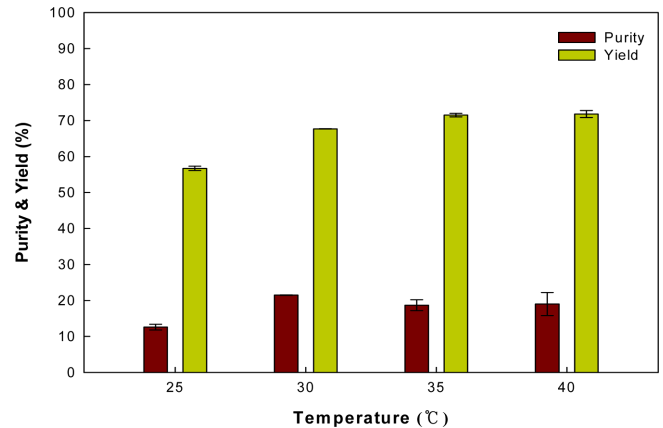


Fig. 2. Effect of adsorption temperature on the purity and yield of paclitaxel after hexane precipitation.

리 온도가 40 °C 이상이 되면 파클리탁셀의 순도 및 수율이 감소할 뿐만 아니라 파클리탁셀의 분해(decomposition)로 흡착제 처리에 어려움이 따른다[20]. 따라서 최적의 흡착제 처리 온도는 30 °C로 선정하였다.

3-2. 흡착제 처리 시간의 영향

흡착제 처리 시간에 대한 영향을 조사하기 위하여, 건조시료(순도: 4.87%)를 이용하여 흡착제 처리 온도는 30 °C, 흡착제 처리 용매는 메틸렌 클로라이드, 건조시료/실로푸트 비율은 1:1(w/w)로 고정하고 흡착제 처리 시간을 5, 10, 15, 20분으로 변화시켜 실험을 수행한 후 후속 공정인 hexan 침전을 수행하여 흡착제 처리 효과를 조사하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 흡착제 처리 시간 5, 10, 15, 20분에서의 파클리탁셀 수율은 각각 62.3, 66.1, 69.2, 68.3%로 시간이 증가할수록 수율이 증가하다 흡착제 처리 시간 15 분부터 거의 변화가 없었다. 또한 순도는 흡착제 처리 시간 5, 10, 15, 20분에서 각각 15.6, 17.2, 17.5, 16.4%로 흡착제 처리 시간에 따른 순도 변화는 매우 미미하였다. 따라서 흡착제 처리 시간은 수율과 순도 측면에서 15분 정도면 충분함을 알 수 있었다. 기존의 문헌보고[13,15-17]에서는 실로푸트를 이용한 흡착제 처리 공정에서 흡착제 처리 시간을 30분 동안 수행하였는데, 본 연구 결과로부터 흡착제 처리 시간을 단축시킬 수

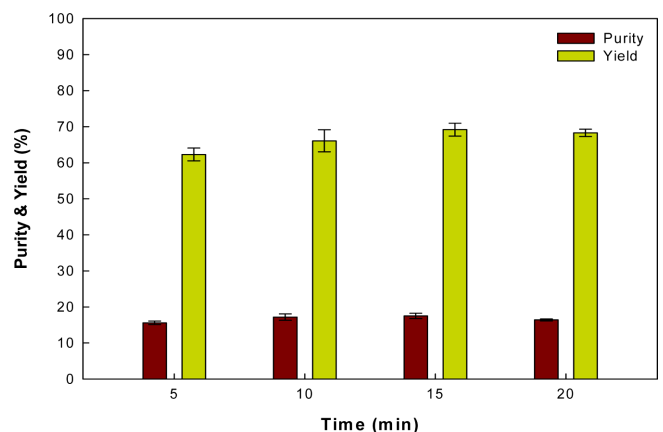


Fig. 3. Effect of adsorption time on the purity and yield of paclitaxel after hexane precipitation.

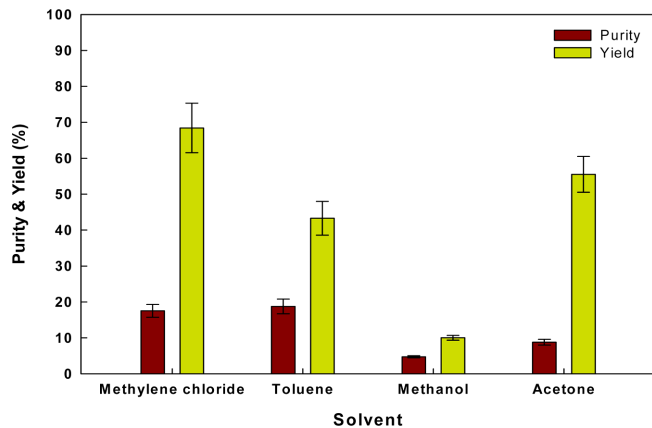


Fig. 4. Effect of solvent type on the purity and yield of paclitaxel after hexane precipitation.

있을 것으로 판단된다.

3-3. 흡착제 처리 용매의 영향

흡착제 처리 공정에서 최적의 온도와 시간은 각각 30 °C와 15분이라는 것을 알 수 있었다. 흡착제 처리를 위한 용매에 대한 영향을 조사하기 위하여, 건조시료(순도: 4.87%)를 이용하여 흡착제 처리 온도는 30 °C, 흡착제 처리 시간은 15분, 건조시료/실로프트 비율은 1:1(w/w)로 고정하고 흡착제 처리 시 사용되는 유기용매를 메틸렌 클로라이드, 톨루엔, 메탄올, 아세톤으로 변화시켜 실험을 수행한 후 후속 공정인 헥산 침전을 수행하여 흡착제 처리 효과를 조사하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 파클리탁셀 수율은 메틸렌 클로라이드, 아세톤, 톨루엔, 메탄올 순으로 각각 68.4, 55.5, 43.3, 10.0%이었으며 메틸렌 클로라이드를 사용하였을 때 가장 높은 수율을 얻을 수 있었다. 또한 파클리탁셀 순도는 톨루엔, 메틸렌 클로라이드, 아세톤, 메탄올 순으로 각각 18.7, 17.5, 8.8, 4.7%이었으며, 톨루엔과 메틸렌 클로라이드를 사용하였을 때 높은 순도를 얻을 수 있었다. 유기용매 종류별로 흡착제를 처리한 후 흡착제에 붙은 총 유기물의 양을 정량하기 위하여, TGA 분석을 수행하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 메탄올 < 아세톤 < 메틸렌 클로라이드 < 톨루엔 순으로 유기물(타르 및 왁스 성분 포함)이 많이 흡착/제거됨을 알 수 있었다. 또한 상용흡착제 실로프트를 처리한 후 흡착제만 회수하여 메탄올로 세척(washing)하

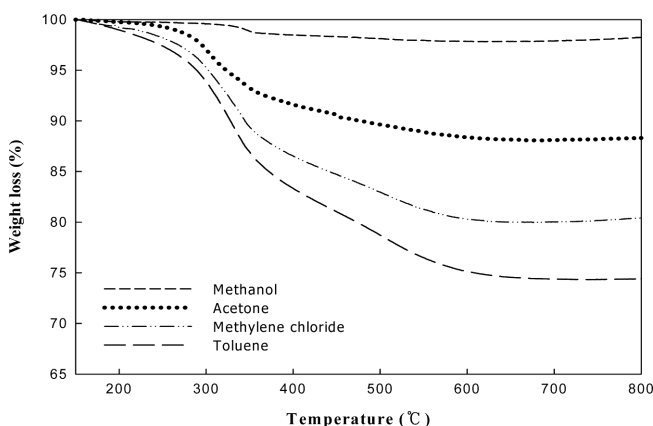


Fig. 5. TGA curve of sylopute after adsorbent treatment with different solvents.

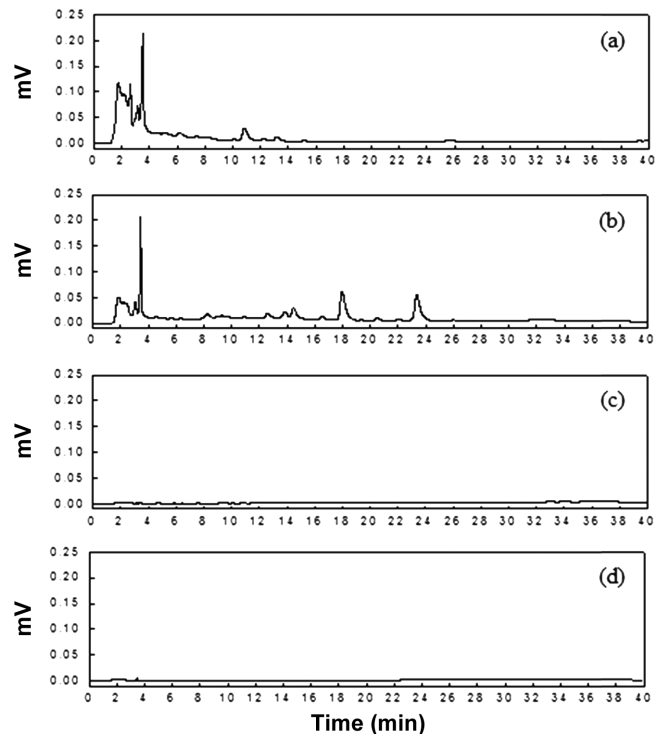


Fig. 6. HPLC chromatograms of sylopute washing solution after adsorbent treatment. (a) methylene chloride, (b) toluene, (c) methanol, (d) acetone.

여 HPLC로 분석한 결과, Fig. 6에서 보는 바와 같이 메틸렌 클로라이드(Fig. 6(a))와 톨루엔(Fig. 6(b))에는 많은 불순물들이 흡착되었음을 알 수 있었으며, 반면 메탄올(Fig. 6(c))과 아세톤(Fig. 6(d))에는 불순물 및 파클리탁셀이 거의 흡착되지 않았음을 알 수 있었다. HPLC 분석 결과를 보면 톨루엔의 경우 많은 유기물뿐만 아니라 파클리탁셀도 함께 흡착/제거되어 수율이 현저히 감소함을 알 수 있었다. 반면 메틸렌 클로라이드의 경우 적절한 유기물의 흡착이 이루어짐과 동시에 파클리탁셀 흡착은 미미함을 알 수 있었다. 아세톤의 경우 유기물의 흡착이 어느 정도 이루어졌으나 톨루엔과 메틸렌 클로라이드에 비해 매우 낮음을 알 수 있었다. 메탄올의 경우 TGA 분석 및 HPLC 분석을 통해서 유기물의 흡착이 거의 이루어지지 않았음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 양성자 받개 용해 파라미터(proton-acceptor solubility parameter) 값이 작은 톨루엔(0.5)과 메틸렌 클로라이드(0.5)를 사용하였을 때 파클리탁셀 및 유기물이 실로프트의 주성분인 실리카(silica)에 잘 흡착되는 반면 양성자 받개 용해 파라미터 값이 상대적으로 큰 아세톤(2.5)과 메탄올(7.5)을 사용하였을 때에는 파클리탁셀 및 유기물이 실로프트의 주성분인 실리카에 잘 흡착되지 않기 때문으로 판단된다[21]. 이상의 결과를 통하여 최적의 유기용매는 메틸렌 클로라이드로 판단된다.

3-4. Crude extract/sylopute ratio의 영향

흡착제 처리 공정에서 최적의 온도, 시간, 용매는 각각 30 °C, 15분, 메틸렌 클로라이드임을 알 수 있었다. 흡착제 처리에서 건조시료/실로프트 비율에 대한 영향을 조사하기 위하여, 건조시료(순도: 4.87%)를 이용하여 흡착제 처리 온도는 30 °C, 흡착제 처리 시간은 15분, 용매는 메틸렌 클로라이드로 고정하고 흡착제 처리 시 건조시료/실

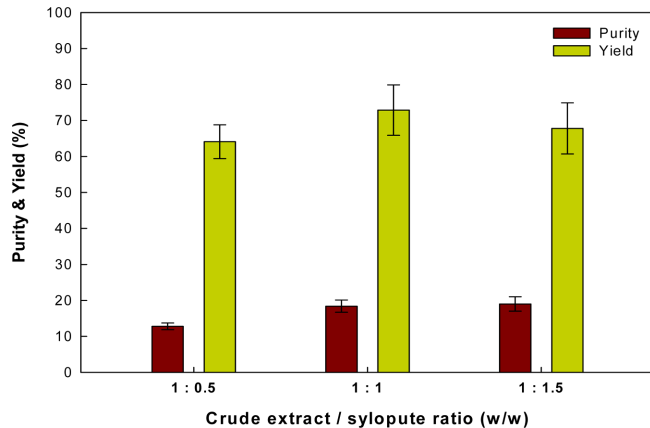


Fig. 7. Effect of crude extract/sylopute ratio on the purity and yield of paclitaxel after hexane precipitation.

로프트 비율을 1:0.5, 1:1, 1:1.5(w/w)로 변화시켜 실험을 수행한 후 후속 공정인 핵산 침전을 수행하여 흡착제 처리 효과를 조사하였다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 파클리탁셀 순도는 건조시료/실로프트 비율이 1:0.5, 1:1, 1:1.5(w/w)일 때 각각 12.8, 18.4, 19.0%를 보였다. 특히 건조시료/실로프트 비율 1:0.5(w/w)보다 1:1(w/w)일 때 매우 큰 폭으로 순도가 증가하였다. 또한 파클리탁셀 수율은 건조시료/실로프트 비율이 1:0.5, 1:1, 1:1.5(w/w)일 때 각각 64.1, 72.9, 67.8%를 보였다. 수율 역시 순도와 마찬가지로 건조시료/실로프트 비율 1:0.5(w/w)보다 1:1(w/w)일 때 큰 폭으로 증가하였다. 하지만 건조시료/실로프트 비율 1:1.5(w/w)에서 오히려 수율이 감소함을 알 수 있었다. 2005년 Pyo 등[13]의 보고에 따르면 흡착제 처리 공정에서 최적의 건조시료/실로프트 비율로 1:1.5(w/w)를 제시하였다. 이러한 결과는 본 연구결과와 차이를 보인 것으로 흡착제 처리 온도(상온, room temperature)의 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 결과적으로 건조시료/실로프트 비율 1:0.5(w/w)에서는 적절한 불순물의 흡착이 이루어지지 못하였으며, 1:1(w/w)에서는 적절한 불순물의 흡착이 이루어지고 1:1.5(w/w)에서는 불순물뿐만 아니라 파클리탁셀도 함께 흡착이 이루어져 파클리탁셀 수율이 감소하는 것으로 판단된다. 따라서 최적의 건조시료/실로프트 비율은 1:1(w/w)임을 알 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 항암물질 파클리탁셀 정제를 위하여, 상용흡착제 실로프트를 이용한 흡착제 처리에서 주요 공정 변수들(온도, 시간, 건조시료/실로프트 비율, 용매)에 따른 영향을 조사하고 흡착제 처리를 위한 최적의 조업 조건을 제시하고자 하였다. 흡착제 처리 온도가 증가할수록 파클리탁셀 수율이 점점 증가하는 경향을 보였으며, 흡착제 처리 온도 30℃에서 파클리탁셀 수율과 순도는 각각 67.7%와 21.5%를 나타내어 가장 효과적임을 알 수 있었다. 흡착제 처리 시간은 15분이면 충분함을 알 수 있었다(파클리탁셀 수율: 69.2%, 순도: 17.5%). 흡착제 처리 용매는 메틸렌 클로라이드에서 가장 높은 수율(68.43%)을 얻을 수 있었으며 TGA와 HPLC 분석을 통해 유기물 흡착/제거 양상도 확인하였다. 건조시료/실로프트 비율은 1:0.5(w/w)보다 1:1(w/w)일 때 큰 폭으로 증가 하였으나 1:1.5(w/w)에서 오히려 파클리탁셀 수율이 감소함을 알 수 있었다. 이상의 결과로부터 흡착

제 처리 공정에서 최적의 온도, 시간, 건조시료/실로프트 비율, 용매는 각각 30℃, 15분, 1:1(w/w), 메틸렌 클로라이드이었다.

감 사

본 연구는 한국연구재단 중견연구지원사업(과제번호: 2011-0010907)에 의해 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Kim, J. H., "Paclitaxel : Recovery and Purification in Commercialization Step," *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 1-10(2006).
- Rao, K. V., Hanuman, B., Alvarez, C., Stoy, M., Juchum, J., Davies, R. M. and Baxley, R., "A New Large-Scale Process for Taxol and Related Taxanes from *Taxus brevifolia*," *Pharm. Res.*, **12**, 1003-1010(1995).
- Baloglu, E. and Kingston, D. G., "A New Semisynthesis of Paclitaxel from Baccatin III," *J. Nat. Prod.*, **62**, 1068-1071(1999).
- Choi, H. K., Adams, T. L., Stahlhut, R. W., Kim, S. I., Yun, J. H., Song, B. K., Kim, J. H., Hong, S. S. and Lee, H. S., "Method for Mass Production of Taxol by Semi-Continuous Culture with *Taxus chinensis* Cell Culture," U.S. Patent No. 5,871,979(1999).
- Choi, H. K., Son, S. J., Na, G. H., Hong, S. S., Park, Y. S. and Song, J. Y., "Mass Production of Paclitaxel by Plant Cell Culture," *Korean J. Plant Biotechnol.*, **29**, 59-62(2002).
- Jeon, K. Y. and Kim, J. H., "Improvement of Fractional Precipitation Process for Pre-Purification of Paclitaxel," *Process Biochem.*, **44**, 736-741(2009).
- Rao, K. V., "Method for the Isolation and Purification of Taxol and Its Natural Analogues," U.S. Patent No. 5,670, 673(1997).
- Castor, T. P., "Method and Apparatus for Isolating Therapeutic Compositions from Source Materials," U.S. Patent No. 5, 750, 709(1998).
- ElSohly, H. N., Jr. Croom, E. M., ElSohly, M. A. and McChesney, J. D., "Methods and Compositions for Isolating Taxanes," U.S. Patent No. 5, 618,538(1997).
- Ko, K. Y. and Kim, I. H., "The Effect of pH and Temperature on Lysozyme Separation in Ion-exchange Chromatography," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**(1), 98-105(2014).
- Kim, J. H., Kang, I. S., Choi, H. K., Hong, S. S. and Lee, H. S., "A Novel Pre-Purification for Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Process Biochem.*, **37**, 679-682(2002).
- Pyo, S. H., Park, H. B., Song, B. K., Han, B. H. and Kim, J. H., "A Large-Scale Purification of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus chinensis*," *Process Biochem.*, **39**, 1985-1991(2004).
- Pyo, S. H., Song, B. K., Ju, C. H., Han, B. H. and Choi, H. J., "Effects of Absorbent Treatment on the Purification of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus chinensis* and Yew Tree," *Process Biochem.*, **40**, 1113-1117(2005).
- Han, M. G., Jeon, K. Y., Mun, S. Y. and Kim, J. H., "Development of a Micelle-Fractional Precipitation Hybrid Process for the Pre-Purification of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Process Biochem.*, **45**, 1368-1374(2010).
- Sim, H. A., Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Evaluation of a High Surface Area Acetone/Pentane Precipitation Process for the Purification of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Sep. Purif. Technol.*, **89**,

- 112-116(2012).
16. Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Influence of Crude Extract Purity and Pure Paclitaxel Content on Fractional Precipitation for Purification of Paclitaxel," *Sep. Purif. Technol.*, **103**, 8-14(2013).
17. Lee, D. H., Kim, S. G., Mun, S. Y. and Kim, J. H., "Evaluation of Feeding and Mixing Conditions for Fractional Precipitation of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Process Biochem.*, **45**, 1134-1140(2010).
18. Gamborg, O. L., Miller, R. A. and Ojima, K., "Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells," *Exp. Cell Res.*, **50**, 151-158(1968).
19. Jeon, Y. L. and Kim, J. H., "Precipitation Characteristics of Paclitaxel in Solvent Systems with Different Ion Exchange Resins," *Korean J. Chem. Eng.*, **30**, 1954-1959(2013).
20. Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Development and Optimization of a Novel Simultaneous Microwave-Assisted Extraction and Adsorbent Treatment Process for Separation and Recovery of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Sep. Purif. Technol.*, **80**, 240-245(2011).
21. Hata, H., Saeki, S., Kimura, T., Sugahara, Y. and Kuroda, K., "Adsorption of Taxol into Ordered Mesoporous Silicas with Various Pore Diameters," *Chem. Mater.*, **11**, 1110-1119(1999).