

실로푸트에 의한 *Taxus chinensis* 유래 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착에 대한 평형, 등온흡착식, 동역학 및 열역학적 특성

박세훈 · 김진현[†]

공주대학교 화학공학부

31080 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24

(2019년 10월 28일 접수, 2019년 12월 14일 수정본 접수, 2019년 12월 17일 채택)

Equilibrium, Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Studies for Adsorption of 7-Epi-10-deacetylpaclitaxel from *Taxus chinensis* on Sylopute

Sae-Hoon Park and Jin-Hyun Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 1223-24, Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan-si, Chungcheongnam-do, 31080, Korea

(Received 28 October 2019; Received in revised form 14 December 2019; accepted 17 December 2019)

요 약

실로푸트에 대한 *Taxus chinensis* 유래 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착을 회분식 실험에서 연구하였다. 흡착 평형 데이터를 Langmuir, Freundlich, Temkin 및 Dubinin-Radushkevich 등온흡착식에 적용한 결과, Langmuir 등온흡착식이 가장 높은 정확도를 나타내었다. 흡착 용량은 온도가 증가함에 따라 감소하였으며, 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착은 적합한 물리적 공정이었다. 흡착 데이터는 유사 이차 동역학 모델과 매우 잘 일치하였으며, 경계층 확산과 입자 내 확산은 흡착 과정에 거의 영향을 미치지 않았다. 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀 흡착 과정은 발열이며 비자발적이었다. 또한, 등량흡착열은 흡착량에 의존하지 않아 흡착제의 표면 에너지가 균일함을 알 수 있었다.

Abstract – In batch experiments, the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel was studied using Sylopute. Experimental equilibrium data were applied to Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich isotherm models. Among the four isotherm models tested, the Langmuir isotherm model gave the highest accuracy. The adsorption capacity was found to decrease with increases in temperature and the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute was a favorable physical process. Adsorption kinetic data agreed very well with the pseudo-second-order kinetic model, while boundary layer diffusion and intraparticle diffusion did not play a key role in the adsorption process. The process of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel adsorption onto Sylopute was exothermic and nonspontaneous. Also, the adsorption isosteric heat was independent of surface loading indicating an energetically homogeneous adsorbent.

Key words: 7-Epi-10-Deacetylpaclitaxel, Sylopute, Adsorption isotherm, Kinetics, Thermodynamics

1. 서 론

식물세포 *Taxus chinensis* 배양을 통한 항암물질 파클리탁셀 생산에서 그 유도체인 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀(7-epi-10-deacetylpaclitaxel)도 상당량 생산된다(Fig. 1)[1]. 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀은 또 다른 파클리탁셀 유도체인 10-디아세틸파클리

탁셀(10-deacetyl-paclitaxel)의 에피머화(epimerization) 반응(120 °C 가열)으로도 제조되며[2], 간암 세포 사멸을 유도하는 유용한 항암 물질이다[3]. 하지만 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀과 파클리탁셀의 구조적 유사성으로 두 물질의 분리는 상당히 어렵다[4]. 이들 성분의 분리를 위해 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC) 또는 초임계 유체 크로마토그래피(supercritical fluid chromatography, SFC)를 이용하고 있다[5-7]. 하지만 HPLC의 경우 처리량이 적고 비용이 많이 소요되며, SFC 또한 분리능이 낮아 대량생산에 어려움이 있다. 따라서 식물세포배양법을 통해 생산된 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀과 파클리탁셀을 좀 더 효율적으로 분리할 수 있는 방법이 필요하다.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jinhyun@kongju.ac.kr

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.

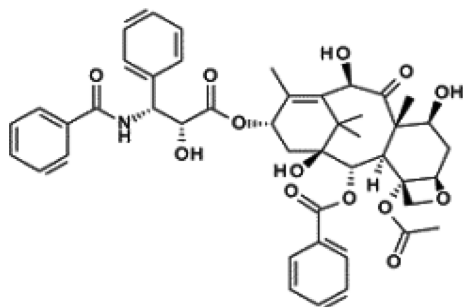


Fig. 1. The chemical structure of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel.

식물세포배양으로부터 파클리탁셀의 분리 및 정제를 위하여, 바이오매스-용매 추출, 액-액 추출, 흡착제 처리, 헥산 및 분별 침전 등과 같은 여러 공정이 이용되고 있는데, 이 중 흡착제 처리 과정에서 파클리탁셀과 그 유도체들이 효과적으로 분리되어 높은 순도의 파클리탁셀을 얻을 수 있었다[8]. 흡착제 처리에서 상용 흡착제인 활성 백토, Diaion HP-20, 활성탄, 실로푸트(Sylopute) 등이 사용될 수 있는데, 실로푸트가 다른 흡착제에 비해 분리능이 우수하여 높은 수율의 파클리탁셀을 얻을 수 있을 뿐만 아니라 흡착제 처리 후 여과 속도 측면에서도 가장 효과적임을 알 수 있었다[9-11]. 하지만 기존 연구들은 주로 파클리탁셀 정제 목적으로 흡착제 처리 과정에서 공정 변수의 영향 및 최적화에 대한 정성적 연구에 집중되어 있으며, 상용 흡착제 실로푸트를 이용한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀 흡착에 대한 등온흡착식, 동역학 및 열역학적 특성에 관한 정량적인 연구는 상당히 미흡하다. 또한 식물세포 *Taxus chinensis* 배양으로부터 생산되는 대표적 유도체인 세팔로마닌(cephalomannine), 10-디아세틸파클리탁셀(10-deacetylpaclitaxel), 13-디하이드록시바카틴 III(13-dehydroxybaccatin III)에 대한 흡착 연구는 이미 체계적으로 수행된 바 있으나 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀에 대한 흡착 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 실로푸트를 이용한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착에 대한 등온흡착식, 동역학 및 열역학적 해석을 통해 흡착 특성을 정량적으로 조사하고자 하였다. 흡착 평형 데이터를 Langmuir, Freundlich, Temkin, Dubinin-Radushkevich 등온흡착식에 적용하여 각 모델의 매개 변수와 흡착 특성을 파악하고, 결정계수(coefficient of determination, r^2)와 평균제곱근표준편차(root mean square deviation, RMSD)를 이용하여 가장 적합한 모델식을 선정하였다. 유사 일차 반응속도식, 유사 이차 반응속도식, 입자 내 확산 모델식을 이용하여 동역학적 해석을 수행하였으며, 열역학적 해석을 위해 열역학적 파라미터(thermodynamic parameters), 활성화 파라미터(activation parameters), 활성화 에너지(activation energy), 등량 흡착열(isosteric heat of adsorption)을 계산하였다. 이를 통해 실로푸트에 의한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀 흡착 메커니즘을 조사하였으며, 더 나아가 식물세포 *Taxus chinensis* 배양을 통해 생산되는 파클리탁셀 유도체들의 실로푸트에 대한 흡착 특성을 비교하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀 시료

본 실험에 사용된 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀(순도: 98%)은

식물세포 *Taxus chinensis* 배양액에서 회수된 바이오매스(식물 세포)로부터 정제되었으며[10], ㈜삼양바이오팜으로부터 제공받았다.

2-2. 등온흡착평형 실험

등온흡착실험은 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀(순도: 98%) 1,000~5,500 mg/L와 실로푸트(Fuji Silysia Chemical Ltd., Japan) 10 g/L를 메틸렌 클로라이드(methylene chloride)에 첨가하여 항온조(EYELA, PS-1000)에서 흡착 온도를 298 K로 유지하고, 30 min 동안 교반하면서 등온흡착시켰다. 실로푸트의 표면적, 기공 부피, 주성분, 세공 직경은 각각 331 m²/g, 1.81 cm³/g, SiO₂, 40~60 nm이다[12]. 흡착이 평형에 도달한 후 여과로 얻은 여액을 313 K, 감압 상태에서 24시간 건조한 후 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 함량을 HPLC를 이용하여 분석하였다. 동일한 방법으로 흡착 온도를 303, 308, 313 K로 달리하여 반복 실험을 수행하였다. 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착량은 식 (1)로 계산하였다[13].

$$q_e = (C_o - C_e) \frac{V}{W} \quad (1)$$

여기서 q_e 는 평형 상태에서의 흡착제 단위 질량 당 흡착된 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 양(mg/g), C_o 와 C_e 는 각각 초기 상태와 평형 상태에서의 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 농도(mg/L)를 나타낸다. V 는 용액의 부피(L), W 는 건조된 흡착제의 질량(g)이다. C_e 에 따른 q_e 의 변화에 대한 실험 데이터를 네 종류의 등온흡착식 Langmuir, Freundlich, Temkin, Dubinin-Radushkevich에 적용하여 흡착 특성 및 적합성을 조사하였다[12,14]. 실험값과 계산값의 일치도를 확인하기 위한 통계 방법으로 r^2 와 RMSD를 이용하였다[14]. r^2 는와 RMSD는 각각 1과 0에 가까운 값을 가질수록 실험값과 계산값 사이의 오차가 적다는 것을 의미한다. RMSD는 식 (2)을 이용하여 계산하였다.

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\text{experimental} - \text{calculated})^2} \quad (2)$$

여기서 n 은 실험 횟수를 나타낸다.

2-3. 흡착속도 실험

메틸렌 클로라이드에 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀(4,500 mg/L)와 실로푸트(10 g/L)를 첨가하여 298 K 항온조(EYELA, PS-1000)에서 흡착 시간(1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min)을 달리하여 실험을 수행하였다. 흡착 후 여과로 얻은 여액을 감압 상태(313 K, 24 시간)에서 건조하고 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 함량을 HPLC로 분석하였다. 동일한 방법으로 흡착 온도 303, 308, 313 K에서 각각 반복 실험을 수행하였다. 각 시간 별 흡착량은 식 (3)을 이용하여 계산하였다.

$$q_t = (C_o - C_t) \frac{V}{W} \quad (3)$$

여기서 C_t 는 각 흡착 시간에서 여과액에 존재하는 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 농도(mg/L)이다. 각 흡착 온도에서 얻은 데이터를 유사 일차 반응속도식(pseudo-first-order model), 유사 이차반응속도식(pseudo-second-order model), 입자 내 확산 모델식(intraparticle diffusion model)에 적용하였다[15,16]. 동역학 모델의 유효성은 식 (4)의 정규화된 표준 편차(normalized standard deviation)인 $\Delta q(\%)$ 를 통

해 확인하였다[12].

$$\Delta q(\%) = 100 \times \frac{\sqrt{\sum [(q_{exp} - q_{cal}) / q_{exp}]^2}}{N - 1} \quad (4)$$

여기서 N은 데이터 포인트의 수이며, q_{exp} 와 q_{cal} 은 각각 실험 흡착량과 계산 흡착량이다.

2-4. 열역학적 파라미터 계산

흡착 평형 데이터를 van't Hoff 식에 적용하여 열역학적 파라미터(thermodynamic parameters)인 표준 엔탈피 변화(ΔH^0), 표준 엔트로피 변화(ΔS^0), 표준 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^0)를 계산하였다. 또한 Arrhenius 식과 Clausius-Clapeyron 식을 이용하여 활성화 에너지(E_a)와 등량 흡착열(ΔH_x)을 각각 계산하였다. 더 나아가 Eyring 식을 이용하여 활성화 파라미터(activation parameters)인 활성화 엔탈피 변화(ΔH^*), 활성화 엔트로피 변화(ΔS^*), 활성화 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^*)를 계산하였다[12,13].

2-5. 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀 분석

7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 함량은 HPLC 시스템(SCL-10AVP, Shimadzu, Japan)과 Capcell Pak C₁₈ column (250×4.6 mm, Shiseido, Japan)을 이용하여 측정하였다. 이동상은 아세토니트릴-증류수 혼합 용액(35/65~65/35, v/v)이며 유속은 1.0 mL/min이었다. 시료 주입량은 20 µL이며 227 nm에서 UV로 검출하였다[17]. HPLC 분석은 표준정량곡선을 이용하였으며 표준 시료(순도: 98%)는 ㈜삼양바이오로부터 제공받았다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 등온흡착양상 해석

흡착 온도에 따른 C_e - q_e 데이터를 네 종류 등온흡착식에 각각 적용하여 실로퓨트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착 양

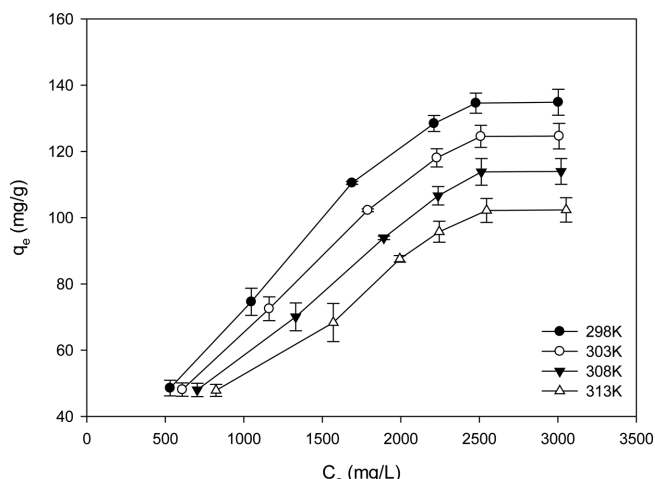


Fig. 2. Adsorption isotherm for 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute at different temperatures.

상을 조사하였다. 흡착 온도 298, 303, 308, 313 K에서 각각 30분간 등온흡착평형 실험을 수행한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 평형 상태에서 흡착질 농도(C_e)가 증가함에 따라 흡착량(q_e)도 증가하다 점차 평형에 도달하였다. 최대 흡착량은 흡착 온도 298, 303, 308, 313 K에서 각각 134.84, 124.61, 113.95, 102.34 mg/g이었다. 흡착질 양의 증가에 따라 흡착량이 비례적으로 증가하지 않는 것은 흡착제 용량이 한정적임을 의미한다. 흡착 특성을 조사하기 위하여 흡착 평형 데이터를 네 가지(Langmuir, Freundlich, Temkin, Dubinin-Radushkevich) 등온흡착식에 적용하였다. 먼저 식 (5)의 Langmuir 등온흡착식에 적용하여 $1/q_e$ 와 $1/C_e$ 를 각 온도별로 도식화하여 Fig. 3(a)에 나타내었다.

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max} K_L C_e} + \frac{1}{q_{max}} \quad (5)$$

Table 1. Langmuir, Freundlich, Temkin, and Dubinin-Radushkevich isotherm constants for the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute

| Isotherm | Parameter | Temperature (K) | | | |
|----------------------|--|-----------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 298 | 303 | 308 | 313 |
| Langmuir | q_{max} (mg/g) | 243.90 | 232.56 | 217.39 | 196.08 |
| | K_L (L/mg) | 0.00046 | 0.00044 | 0.00040 | 0.00039 |
| | R_L | 0.2823-0.6839 | 0.2913-0.6933 | 0.3144-0.7161 | 0.3203-0.7216 |
| | r^2 | 0.992 | 0.992 | 0.987 | 0.978 |
| | RMSD | 4.68 | 4.14 | 3.96 | 4.06 |
| Freundlich | K_F (mg/g) (L/mg) ^{1/n} | 0.93 | 0.80 | 0.71 | 0.68 |
| | 1/n | 0.63 | 0.64 | 0.64 | 0.63 |
| | r^2 | 0.979 | 0.981 | 0.979 | 0.967 |
| | RMSD | 6.96 | 5.78 | 4.91 | 4.67 |
| Temkin | B (J/mol) | 54.88 | 52.64 | 49.83 | 45.85 |
| | K_T (L/mg) | 0.0043 | 0.0039 | 0.0035 | 0.0033 |
| | r^2 | 0.976 | 0.976 | 0.969 | 0.956 |
| | RMSD | 5.07 | 4.46 | 4.31 | 4.18 |
| Dubinin-Radushkevich | q_D (mg/g) | 127.66 | 120.01 | 111.31 | 102.68 |
| | $K_{DR} \times 10^7$ (mol/kJ) ² | 0.047 | 0.059 | 0.072 | 0.089 |
| | E (kJ/mol) | 3.25 | 2.92 | 2.63 | 2.38 |
| | r^2 | 0.881 | 0.891 | 0.889 | 0.894 |
| | RMSD | 12.49 | 10.51 | 9.03 | 7.15 |

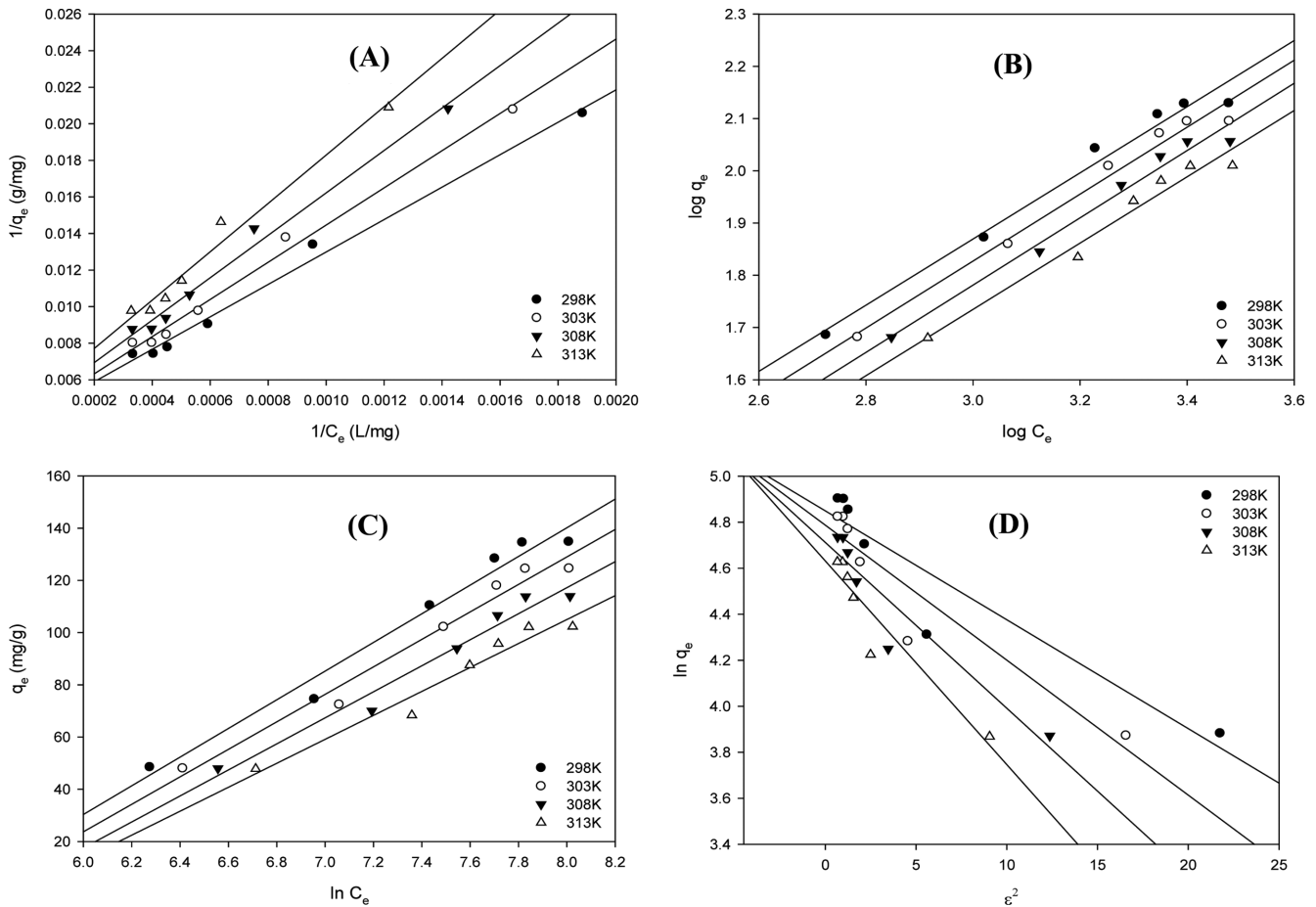


Fig. 3. Adsorption isotherms using linear form for 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute at different temperatures: (A); Langmuir isotherm, (B); Freundlich isotherm, (C); Temkin isotherm, and (D); Dubinin-Radushkevich isotherm.

계산된 파라미터는 Table 1에 정리하였다. 흡착 온도 298, 303, 308, 313 K에서 최대흡착용량 q_{max} 는 각각 243.90, 232.56, 217.39, 196.08 mg/g이었으며, 온도가 증가할수록 q_{max} 값이 감소하였다. 이는 온도 감소에 따라 한정된 흡착 범위 내에서 흡착질의 흡착이 원활하게 이루어지는 발열 공정을 의미한다. 흡착 온도(298~313 K)가 증가함에 따라 흡착 속도와 관련된 Langmuir 상수 KL 값(0.00046~0.00039 L/mg)은 감소하였다. 무차원 분리 계수(평형 계수) RL 의 경우, 모든 온도에서의 RL 값(0.2823~0.7216)이 0과 1 사이에 존재하여 흡착 공정이 적합함을 알 수 있었다[18]. Freundlich 등온흡착식의 경우, 식 (6)에 적용하여 $\log q_e$ 와 $\log C_e$ 를 도식화하여 Fig. 3(b)에 나타내었다.

$$\log q_e = \log K_F + \left(\frac{1}{n}\right) \log C_e \quad (6)$$

계산된 파라미터는 Table 1에 정리하였다. 온도(298~313 K)가 증가함에 따라 흡착 용량과 관련된 Freundlich 상수 K_F 값(0.93~0.68(mg/g) (L/mg)^{1/n})은 감소하였다. 무차원 분리 계수 $1/n$ (0.63~0.64)의 경우, 모든 온도에서 0과 1 사이에 존재하므로 흡착 공정이 적합함을 알 수 있었다[19]. Temkin 등온흡착식의 경우, 식 (7)에 적용하여 q_e 와 $\ln C_e$ 를 도식화하여 Fig. 3(c)에 나타내었다.

$$q_e = B \ln K_T + B \ln C_e \quad (7)$$

계산된 파라미터는 Table 1에 정리하였다. 온도(298~313 K)가 증가

함에 따라 흡착열과 관련된 Temkin 상수 B 값(54.88~45.85 J/mol)은 감소하므로 흡착 공정이 발열임을 알 수 있었다[20]. 온도 증가에 따라 최대결합에너지와 관련된 평형결합상수 K_T 값(0.0043~0.0033 L/mg)이 감소하여 온도 증가에 따라 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀과 실로푸트의 결합력이 감소함을 알 수 있었다[18]. Dubinin-Radushkevich 등온흡착식의 경우, 식 (8)에서는 ϵ 를 계산한 후, $\ln q_e$ 와 ϵ^2 을 도식화하여 Fig. 3(d)에 나타내었다.

$$\ln q_e = \ln q_D - K_{DR} \cdot \epsilon^2 \quad (8)$$

계산된 파라미터는 Table 1에 정리하였다. 온도(298~313 K) 증가에 따라 이론 포화 흡착 용량 q_D 값(127.66~102.68 mg/g)은 감소하였다. 이는 Langmuir 등온흡착식의 q_{max} 와 마찬가지로 온도가 높을수록 일정 범위의 흡착제 표면 내에서 흡착이 덜 일어남을 의미한다. 흡착 온도(298~313 K)에서 흡착 에너지(E)는 3.25~2.38 kJ/mol로 나타났으며, 모든 온도에서 8 kJ/mol 이하로 실로푸트에 의한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착이 물리적임을 나타낸다[18,21]. 네 종류의 등온흡착식을 비교한 결과, 높은 r^2 값(>0.978)과 낮은 RMSD 값(<4.68)을 보인 Langmuir 등온흡착식에 가장 잘 따름을 알 수 있었다. 상용 흡착제 실로푸트에 대한 대표적 파클리탁셀 유도체들(7-에피-10-디아세틸파클리탁셀, 10-디아세틸파클리탁셀, 세팔로마닌, 13-디하이드록시바카틴 III)의 흡착 특성을 비교하여 Table 2에 정리하였다. 흡착 온도 298~313 K에서 7-에피-10-디아세틸파클리

Table 2. Comparison of adsorption characteristics of typical paclitaxel's derivatives from *Taxus chinensis* onto Sylopute at different temperatures (298-313 K)

| Paclitaxel derivatives | Best-fit isotherm | Maximum adsorption capacity (mg/g) | Thermodynamic characteristics | Ref. |
|-----------------------------|-------------------|------------------------------------|--|------------|
| 7-Epi-10-deacetylpaclitaxel | Langmuir | 243.90-196.08 | $\Delta H^0 < 0, \Delta S^0 < 0, \Delta G^0 > 0$ | This study |
| 13-Dehydroxybaccatin III | Langmuir | 111.11-104.17 | $\Delta H^0 < 0, \Delta S^0 < 0, \Delta G^0 > 0$ | [22] |
| 10-Deacetylpaclitaxel | Freundlich | 270.61-281.99 | $\Delta H^0 > 0, \Delta S^0 > 0, \Delta G^0 > 0$ | [23] |
| Cephalomannine | Temkin | 138.89-136.43 | $\Delta H^0 < 0, \Delta S^0 < 0, \Delta G^0 < 0$ | [24] |

탁셀의 q_{max} 는 243.90~196.08 mg/g인 반면 13-디하이드록시바카틴 III 111.11~104.17 mg/g, 10-디아세틸파클리탁셀 270.61~281.99 mg/g, 세팔로마닌 138.89~136.43 mg/g를 각각 나타내었다. 또한 13-디하이드록시바카틴 III는 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀과 마찬가지로 Langmuir 등온흡착식[22], 10-디아세틸파클리탁셀은 Freundlich 등온흡착식[23], 세팔로마닌은 Temkin 등온흡착식[24]에 가장 잘 따름을 알 수 있었다. 흡착 온도가 증가함에 따라 실로푸트에 대한 10-디아세틸파클리탁셀의 흡착량은 증가한 반면 나머지 유도체들은 감소하였다[22-24].

3-2. 흡착 동역학적 해석

7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 포화 농도인 4,500 mg/L에서 흡착 온도(298, 303, 308, 313 K)를 달리하여 흡착 시간(~30 분)에 따른 흡착량을 조사한 결과, 시간에 따른 흡착량 변화가 거의 없었다(data not shown). q_e 와 q_t 의 차이가 미미해 식 (9)의 유사 일차 반응속도식에 적용이 불가하므로, 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착이 유사 일차 반응속도식을 따르지 않음을 알 수 있었다.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (9)$$

실험값을 식(10)의 유사 이차 반응속도식에 적용하기 위해 t/q_t 와 t 를 도식화하여 Fig. 4(A)에 나타내었다.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (10)$$

기울기와 절편으로부터 계산된 파라미터를 Table 3에 정리하였다. 흡착 온도(298, 303, 308, 313 K)가 증가할수록 k_2 (1.16, 0.90, 0.74, 0.64 g/mg·min)는 감소하였다. 모든 온도에서 높은 r^2 값(1.00)과 작은 Δq 값(<0.35%)을 가지므로 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착 공정은 유사 이차 반응속도식을 잘 따름을 알 수 있었다. 이러한 결과는 식물세포 *Taxus chinensis* 유래 파클리탁셀과 그 유도체인 세팔로마닌, 10-디아세틸파클리탁셀, 13-디하이드록시바카틴 III의 경우와도 유사하였다[21-24].

흡착 공정에서 율속 단계(rate-limiting step)를 확인하기 위하여 식 (11)의 입자 내 확산 모델식에 적용하였다.

$$q_t = k_p t^{1/2} + C \quad (11)$$

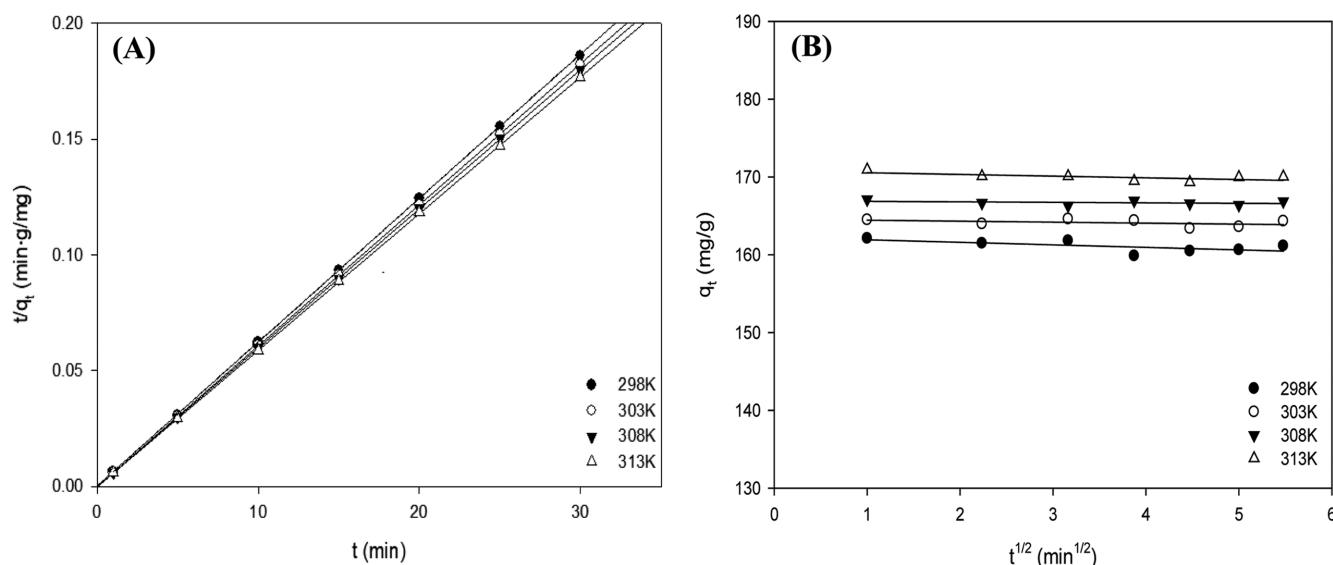


Fig. 4. Pseudo-second-order plot (A) and intraparticle diffusion plot for the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute at a 7-epi-10-deacetylpaclitaxel concentration of 4,500 mg/L and a Sylopute concentration of 10 g/L.

Table 3. Parameters of pseudo-second-order kinetic model for the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute at different temperatures

| Initial conc. (mg/L) | Temperature (K) | $q_{e,exp}$ (mg/g) | Pseudo-second-order kinetic model | | | |
|-------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------------|-------|----------------|
| | | | $q_{e,cal}$ (mg/g) | k_2 (g/mg·min) | r^2 | Δq (%) |
| 4,500 | 298 | 169.98 | 169.46 | 1.16 | 1.00 | 0.35 |
| | 303 | 166.69 | 166.69 | 0.90 | 1.00 | 0.12 |
| | 308 | 164.43 | 163.89 | 0.74 | 1.00 | 0.15 |
| | 313 | 160.84 | 161.24 | 0.64 | 1.00 | 0.03 |

일반적으로 흡착 공정에서 입자 내 확산 모델식에 따라 q_t 대 $t^{1/2}$ 로 도식화할 경우, 그 기울기에 따라 흡착질이 흡착제 외부 경계층으로 이동(boundary layer diffusion)하는 단계, 흡착질이 흡착제 내로 확산(intraparticle diffusion)되는 단계, 평형(equilibrium) 단계로 구분된다[16,25,26]. 흡착 데이터를 입자 내 확산 모델식에 적용한 결과, Fig. 4(B)에서 보는 바와 같이 흡착 진행 시간(1~30 min) 동안 평형 단계만이 관찰되었는데, 이는 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착이 빠른 시간 내에 평형에 도달함을 의미한다[27]. 즉, 경계층 확산과 입자 내 확산은 전체 흡착 속도에 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 고순도(~98%)의 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀(space-filling 모델에 기반한 분자 크기: $<1.0 \times 1.5 \times 2.0$ nm)이 실로푸트(세공 직경: 40~60 nm)의 기공으로 빠르게 이동하여 흡착이 완료되기 때문으로 판단된다[28,29]. 대체로 평형 단계는 율속 단계보다 44~780배 정도 작은 속도 상수 값을 나타내어 반응속도에 미치는 영향이 미미하다[24]. ΔG 는 매우 작은 값(0.03~0.35%)을 가지므로 입자 내 확산 모델식에 잘 따름을 알 수 있었다[24]. 입자 내 확산 속도 상수는 파클리탁셀의 경우 $<30 \text{ g/mg} \cdot \text{min}^{1/2}$ 정도인 반면 그 유도체의 경우 매우 작은 값($<0.5 \text{ g/mg} \cdot \text{min}^{1/2}$)을 가진다[21-24]. 파클리탁셀의 경우 입자 내 확산이 흡착 속도에 영향을 미치는 반면 그 유도체인 세팔로마닌, 10-디아세틸파클리탁셀, 13-디하이드록시바카틴 III는 모두 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 경우와 마찬가지로 흡착 속도에 거의 영향을 미치지 않았다[21-24].

3-3. 흡착 열역학적 해석

식 (12)의 Arrhenius 식을 이용하여 활성화 에너지(E_a)를 계산하였다.

$$\ln k = \ln k_o + \left(\frac{-E_a}{R} \right) \frac{1}{T} \quad (12)$$

$\ln k_2$ 와 $1/T$ 를 도식화(Fig. 5(A))하고, 직선의 기울기로부터 구한 E_a 는 -30.63 kJ/mol 이었다(Table 4). $E_a < 40 \text{ kJ/mol}$ 이므로 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착은 물리적임을 알 수 있었다[30].

표준 엔탈피 변화(ΔH^0), 표준 엔트로피 변화(ΔS^0), 표준 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^0)를 구하기 위하여, 식 (13)의 van't Hoff 식을 이용하여 $\ln K_e$ 와 $1/T$ 를 도식화하였다(Fig. 5(B)).

$$\ln K_e = \frac{\Delta E^0}{RT} - \frac{\Delta S^0}{R} \quad (13)$$

먼저 직선의 기울기와 절편으로부터 ΔH^0 와 ΔS^0 를 계산한 후 ΔG^0 를 구하였다(Table 4). ΔH^0 는 -0.76 kJ/mol 로 음의 값을 나타내어 흡착 과정이 발열임을 확인하였다. ΔS^0 는 $-0.02 \text{ kJ/mol} \cdot \text{K}$ 로 음의 값이므로 흡착 진행에 따라 무질서도(randomness or disorder)가 감소하였다. ΔG^0 는 양의 값($6.99 \sim 7.30 \text{ kJ/mol}$)으로 흡착이 비자발적(non-spontaneous)이었다[31]. 또한 온도 증가에 따라 ΔG^0 가 증가하므로, 흡착이 온도 증가에 따라 더 비자발적임을 알 수 있었다. 또한 $\Delta G^0 > -20 \text{ kJ/mol}$ 이므로 물리적 흡착임을 재확인할 수 있었다[32]. 다른 유도체들과 비교해 보면(Table 2), 10-디아세틸파클리탁셀은 $\Delta H^0 > 0$ 로 흡열, 13-디하이드록시바카틴 III와 세팔로마닌은 $\Delta H^0 < 0$ 로 발열임을 알 수 있었다[22-24]. 10-디아세틸파클리탁셀은 $\Delta S^0 > 0$ 로 흡착이 진행됨에 따라 무질서도가 증가하는 반면 세팔로

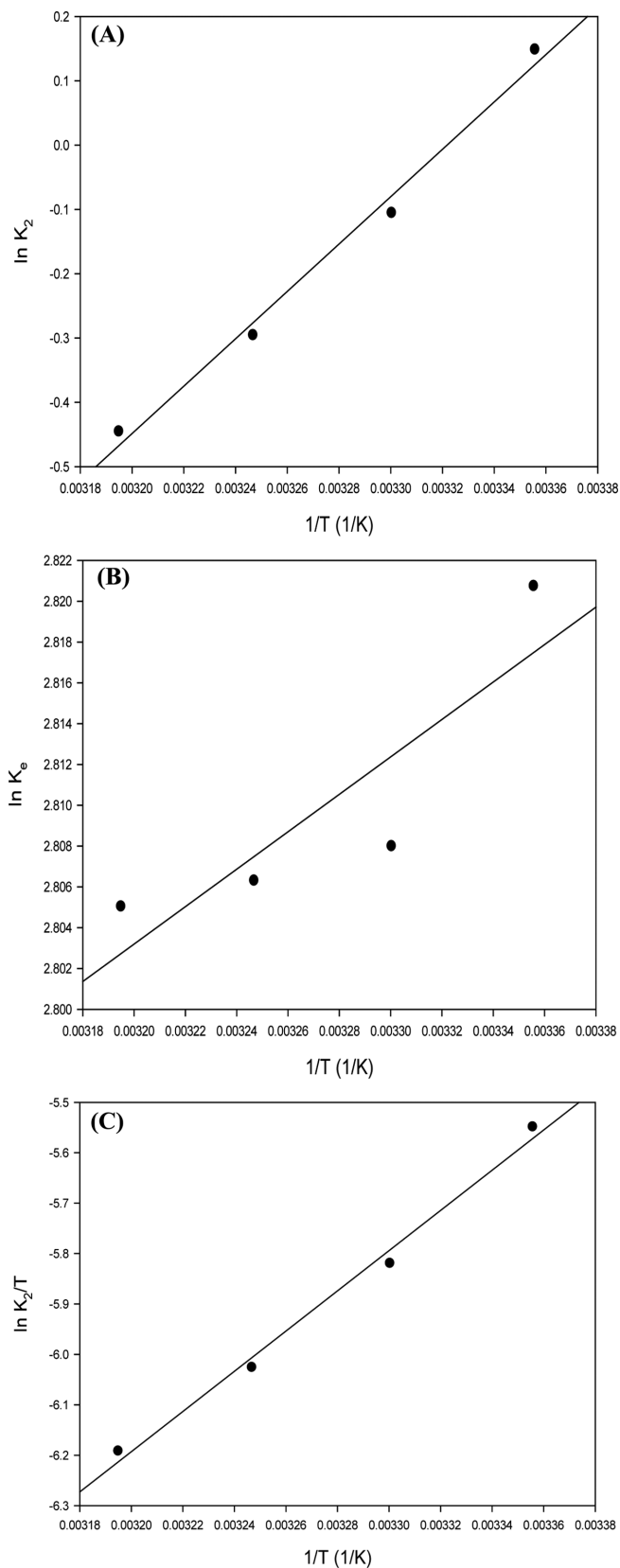


Fig. 5. Plot of $\ln k_2$ versus $1/T$ ($r^2=0.989$) (A), $\ln K_e$ versus $1/T$ ($r^2=0.766$) (B), and $\ln k_2/T$ versus $1/T$ ($r^2=0.991$) (C).

마닌과 13-디하이드록시바카틴 III는 $\Delta S^0 < 0$ 로 흡착이 진행됨에 따라 무질서도가 감소하였다. 또한 세팔로마닌은 $\Delta G^0 < 0$ 로 흡착이 자

Table 4. Thermodynamic parameters and activation parameters for the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute at different temperatures

| Temperature (K) | K_c | E_a (kJ/mol) | ΔH (kJ/mol) | ΔS (kJ/mol·K) | ΔG (kJ/mol) | ΔH^* (kJ/mol) | ΔS^* (kJ/mol·K) | ΔG^* (kJ/mol) |
|-----------------|-------|----------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
| 298 | 16.79 | | | | 6.99 | | | 72.71 |
| 303 | 16.58 | | | | 7.07 | | | 74.46 |
| 308 | 16.55 | -30.63 | -0.76 | -0.02 | 7.19 | -31.68 | -0.35 | 76.21 |
| 313 | 16.53 | | | | 7.30 | | | 77.97 |

발적(spontaneous)인 반면 10-디아세틸파클리탁셀과 13-디하이드록시바카틴 III는 $\Delta G^0 > 0$ 로 비자발적(nonspontaneous)임을 알 수 있었다.

흡착 공정의 전이 상태에서 활성화물(activated complex)의 활성화 파라미터를 조사하기 위하여, 식 (14)의 Eyring 식을 이용하여 $\ln k_2/T$ 와 $1/T$ 를 도식화하여 Fig. 5(C)에 나타내었다.

$$\ln \left(\frac{k_2}{T} \right) = \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^*}{R} - \frac{\Delta H^*}{RT} \quad (14)$$

먼저 직선의 기울기와 절편으로부터 활성화 엔탈피 변화(ΔH^*)와 활성화 엔트로피 변화(ΔS^*)를 계산한 후 활성화 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^*)를 구하였다(Table 4). ΔH^* (-31.68 kJ/mol)와 ΔS^* (-0.35 kJ/mol·K)는 모두 음의 값을 가져 발열이고 결합 메커니즘(associative mechanism)을 포함하는 공정임을 알 수 있었다[33]. ΔG^* 는 반응물에서 전이 상태로 전환되기 위하여 외부에서 에너지를 공급받는 대부분 흡착 공정에서 양의 값을 가져야 하는데 [33], ΔG^* 는 모든 온도(298~313 K)에서 양의 값(72.71~77.97 kJ/mol)을 보여 잘 부합함을 확인하였다.

등량 흡착열(ΔH_X)은 공정 최적화를 위한 특성 중의 하나이며, 이를 계산하기 위하여 흡착량(q_e)을 60~110 mg/g으로 설정하고 C_e 와 q_e 를 Clausius-Clapeyron 식에 적용하였다.

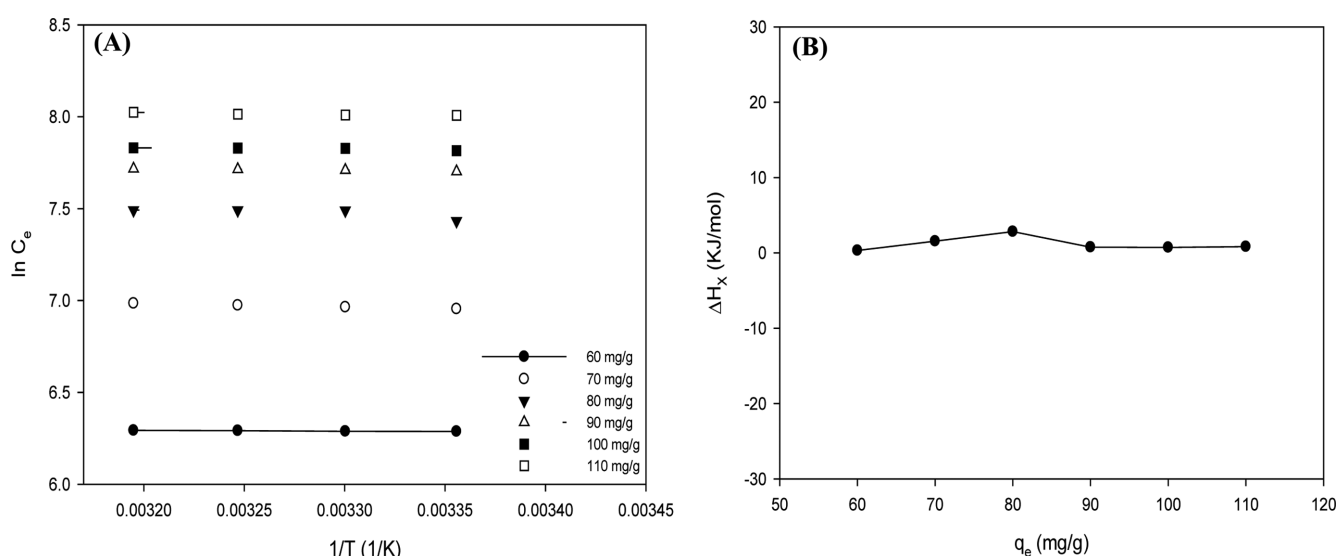
$$\frac{d(\ln C_e)}{dT} = -\frac{\Delta H_X}{RT^2} \quad (15)$$

$\ln C_e$ 와 $1/T$ 를 도식화하여 Fig. 6(A)에 나타내었다. 직선의 기울기로부터 ΔH_X 를 계산하였고, q_e 와 ΔH_X 를 도식화하여 Fig. 6(B)에

나타내었다. ΔH_X 는 q_e 에 관계없이 거의 일정 하였는데(~1 kJ/mol), 이는 흡착제의 표면에너지가 균일함을 의미한다[24]. 또한 ΔH_X 값이 80 kJ/mol 이하로, 실로푸트에 대한 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착이 물리적 공정임을 재확인하였다[21]. 한편, 파클리탁셀, 세팔로마닌, 10-디아세틸파클리탁셀의 경우[21,23,24]에는 q_e 에 따른 ΔH_X 값이 거의 일정한 반면 13-디하이드록시바카틴 III는 감소하였는데, 이는 흡착이 진행됨에 따라 흡착제의 표면에너지가 불균일하고 흡착제의 표면 활성점에 덮임이 증가할 때 흡착제와 흡착질 간에 상호작용이 제한됨을 알 수 있었다[22]. 또한 파클리탁셀, 세팔로마닌, 10-디아세틸파클리탁셀, 13-디하이드록시바카틴 III 모두 ΔH_X 값이 80 kJ/mol 이하로 물리적 흡착임을 알 수 있었다[21-24].

4. 결 론

본 연구에서는 상용 흡착제 실로푸트를 이용하여 식물세포 *Taxus chinensis* 유래 7-에피-10-디아세틸파클리탁셀의 흡착에 대한 등온흡착식, 동역학 및 열역학적 해석을 통해 흡착 특성을 정량적으로 조사하였다. 흡착 평형 데이터를 Langmuir, Freundlich, Temkin 및 Dubinin-Radushkevich 등온흡착식에 적용한 결과, 흡착 공정이 적합하였으며, 온도 증가에 따라 흡착 용량이 감소하였고, 물리적 흡착력에 의한 발열 공정이었다. 높은 r^2 값(>0.978)과 낮은 RMSD 값(<4.68)을 보인 Langmuir 등온흡착식이 가장 적합하였다. 흡착 공정은 유사 이차 반응속도식에 잘 따름을 알 수 있었으며, 입자 내 확산 모델식으로부터 흡착이 빠르게(1분 이내) 평형에 도달하여 경계층 확산과 입자 내 확산은 전체 흡착 속도에 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. ΔH^0 (-0.76 kJ/mol)와 ΔS^0 (-0.020 kJ/mol·K)


Fig. 6. Plot of $\ln C_e$ versus $1/T$ (A) and ΔH_X versus q_e (B) for the adsorption of 7-epi-10-deacetylpaclitaxel onto Sylopute.

는 모두 음의 값을 보여 흡착 공정이 발열이며 흡착이 진행됨에 따라 무질서도가 감소함을 알 수 있었다. ΔG^0 (6.99~7.30 kJ/mol)는 양의 값을 가지고 온도가 증가에 따라 더 비자발적으로 수행됨을 알 수 있었다. 또한 E_a (-30.63 kJ/mol)를 통해 물리적 흡착 공정임을 재확인하였다. q_e (60~110 mg/g)가 증가하여도 ΔH_X (~1 kJ/mol)는 거의 변화가 없었으며, 이로부터 흡착제의 표면 에너지가 균일함을 알 수 있었다.

감 사

이 논문은 2018년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업의 결과물입니다(과제번호: 2018R1D1A3A03000683).

References

- Kim, J. H., Gi, U. S., Min, B. C., Hong, S. S. and Lee, H. S., "Production and Purification of Taxane Derivatives from the Plant Cell Cultures of *Taxus chinensis* in Large-scale Process", *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 398-401(2000).
- Ringel, I., Horwitz, S. B. and Susan, B. H., "Taxol is Converted to 7-epitaxol, a Biologically Active Isomer, in Cell Culture Medium", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **242**, 692-698(1987).
- Subban, K., Singh, S., Subramani, R., Johnpaul, M. and Chelliah, J., "Fungal 7-epi-10-deacetyltaxol Produced by an Endophytic *Pestalotiopsis microspora* Induces Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line (HepG2)", *BMC Compl. Altern. Med.*, **17**, 504(2017).
- Miller, R. W., Powell, R. G., Smith, C. R., Jr., Arnold, E. and Clardy, J., "Antileukemic Alkaloids from *Taxus wallichiana* Zucc.", *J. Org. Chem.*, **46**, 1469-1474(1981).
- Witherup, K. M., Look, S. A., Stasko, M. W., Ghiorzi, T. J. and Muschik, G. M., "*Taxus* spp. Needles Contain Amounts of Taxol Comparable to the Bark of *Taxus brevifolia*: Analysis and Isolation", *J. Nat. Prod.*, **53**, 1249-1255(1990).
- Pyo, S. H., Choi, H. J. and Han, B. H., "Large-scale Purification of 13-dehydroxybaccatin III and 10-deacetylpaclitaxel, Semi-synthetic Precursors of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus chinensis*", *J. Chromatogr.*, **1123**, 15-21(2006).
- Cho, B. K. and Byun, S. Y., "Purification of Paclitaxel and Its Derivatives by Supercritical Fluid Chromatography (SFC)", *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**, 17-23(1999).
- Lee, C. G. and Kim, J. H., "Separation Behavior of Paclitaxel and Its Semi-synthetic Precursor 10-deacetylpaclitaxel from Plant Cell Cultures", *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**, 89-93(2016).
- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Adsorption Kinetics, Mechanism, Isotherm, and Thermodynamic Analysis of Paclitaxel from Extracts of *Taxus chinensis* cell cultures onto Sylopute", *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **24**, 513-521(2019).
- 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).
- Yang, J. W. and Kim, J. H., "Evaluation of Adsorption Characteristics of 2-picoline onto Sylopute", *Korean Chem. Eng. Res.*, **57**, 210-218(2019).
- Maneechakr, P. and Karnjanakom, S., "Adsorption Behavior of Fe(II) and Cr(VI) on Activated Carbon: Surface Chemistry, Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Studies", *J. Chem. Thermodyn.*, **106**, 104-112(2017).
- Park, S. H. and Kim, J. H., "Isotherm, Kinetic, and Thermodynamic Characteristics for Adsorption of 2,5-xyleneol Onto Activated Carbon", *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **23**, 541-549(2018).
- Lee, J. J., "Study on Equilibrium, Kinetic and Thermodynamic for Adsorption of Coomassie Brilliant Blue G Using Activated Carbon", *Clean Technol.*, **20**, 290-297(2014).
- Yang, Q., Gao, M., Luo, Z. and Yang, S., "Enhanced Removal of Bisphenol A from Aqueous Solution by Organo-montmorillonites Modified with Novel Gemini Pyridinium Surfactants Containing Long Alkyl Chain", *Chem. Eng. J.*, **285**, 27-38(2016).
- Lee, S. H. and Kim, J. H., "Kinetic and Thermodynamic Characteristics of Microwave-assisted Extraction for the Recovery of Paclitaxel from *Taxus chinensis*", *Process Biochem.*, **76**, 187-193(2019).
- Lee, J. J., "Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Characteristics for Adsorption of Congo Red by Activated Carbon", *Korean Chem. Eng. Res.*, **53**, 64-70(2015).
- Dada, A. O., Olalekan, A. P., Olatunya, A. M. and Dada, O., "Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn^{2+} Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk", *IOSR-JAC.*, **3**, 38-45(2012).
- Chowdhury, S., Mishra, R., Saha, P. and Kushwaha, P., "Adsorption Thermodynamics, Kinetics and Isothermic Heat of Adsorption of Malachite Green Onto Chemically Modified Rice Husk", *Desalination*, **265**, 159-168(2011).
- Kim, Y. S. and Kim, J. H., "Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Studies on the Adsorption of Paclitaxel Onto Sylopute", *J. Chem. Thermodyn.*, **130**, 104-113(2019).
- Lim, Y. S. and Kim, J. H., "Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Studies on the Adsorption of 13-dehydroxybaccatin III from *Taxus chinensis* Onto Sylopute", *J. Chem. Thermodyn.*, **115**, 261-268(2017).
- Bang, S. Y. and Kim, J. H., "Isotherm, Kinetics and Thermodynamic Studies on the Adsorption Behavior of 10-deacetylpaclitaxel on to Sylopute", *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **22**, 620-630(2017).
- Kim, H. and Kim, J. H., "Adsorption of Cephalomannine Onto Sylopute: Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Characteristics", *Korean Chem. Eng. Res.*, **57**, 219-224(2019).
- Shin, H. S. and Kim, J. H., "Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Characteristics of Adsorption of Paclitaxel Onto Diaion HP-20", *Process Biochem.*, **51**, 917-924(2016).
- Geçel, Ö., Özcan, A., Özcan, A. S. and Geçel, H. F., "Preparation of Activated Carbon from a Renewable Bio-plant of *Euphorbia Rigida* by H_2SO_4 Activation and Its Adsorption Behavior in Aqueous Solutions", *Appl. Surf. Sci.*, **253**, 4843-4852(2007).
- Tan, I. A. W., Ahmad, A. L. and Hameed, B. H., "Adsorption of Basic Dye on High-surface-area Activated Carbon Prepared from Coconut Husk: Equilibrium, Kinetic and Thermodynamic Studies", *J. Hazard. Mater.*, **154**, 337-346(2008).

28. Oh, H. J., Jung, K. Y. and Kim, J. H., "Effect of Pore Size of Mesoporous Spherical Silica for the Purification of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *KSBB J.*, **28**, 208-212(2013).
29. Hata, H., Saeki, S., Kimura, T., Sugahara, Y. and Kuroda, K., "Adsorption of Taxol Into Ordered Mesoporous Silica with Various Pore Diameters," *Chem Mater.*, **11**, 1110-1119(1999).
30. Karaoğlu, M. H., Zor, Ş. and Uğurlu, M., "Biosorption of Cr(III) from Solutions Using Vineyard Pruning Waste," *Chem. Eng. J.*, **159**, 98-106(2010).
31. Zulfikar, M. A., "Effect of Temperature on Adsorption of Humic Acid from Peat Water Onto Pyrophyllite," *Int. J. Chem., Environ. Biol. Sci.*, **1**, 88-90(2013).
32. Çelekli, A., Ilgün, G. and Bozkurt, H., "Sorption Equilibrium, Kinetic, Thermodynamic, and Desorption Studies of Reactive Red 120 on *Chara contraria*," *Chem. Eng. J.*, **191**, 228-235(2012).
33. Saha, P. and Chowdhury, S., "Insight Into Adsorption Thermodynamics," Prof. Mizutani Tadashi (Ed.), ISBN: 978-953-307-544-0, In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/thermodynamics/insight-into-adsorption-thermodynamics>(2011).