

Taxus chinensis 유래 파클리탁셀 정제를 위한 초음파를 이용한 마이셀 추출

박지민 · 김진현[†]

공주대학교 화학공학부
31080 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2020년 9월 10일 접수, 2020년 9월 16일 수정본 접수, 2020년 9월 21일 채택)

Ultrasound-Assisted Micellar Extraction for Paclitaxel Purification from *Taxus chinensis*

Ji-Min Park and Jin-Hyun Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan, 31080, Korea
(Received 10 September 2020; Received in revised form 16 September 2020; accepted 21 September 2020)

요 약

본 연구에서는 식물세포 *Taxus chinensis*로부터 항암물질 파클리탁셀을 효율적으로 정제하기 위하여, 초음파 기반 마이셀 추출 공정을 개발하였다. 전통적 마이셀 공정(대조군)에서의 많은 추출 단계 및 긴 상 분리 시간을 문제를 획기적으로 개선하였다. 초음파 파워 180 W, 초음파 조사 1.5 시간에서 가장 높은 파클리탁셀 수율(~96%, 2회 추출)을 얻었으며, 이는 대조군의 수율에 비해 24.7% 증가하였다. 또한 분배 계수(K)는 초음파 파워 180 W, 초음파 조사 1.5 시간에서 최대치(24.0)를 보였다. 파클리탁셀 순도에는 큰 차이가 없었으며, 초기 파클리탁셀의 순도(6.81%)가 정제 후 22%까지 증가하였다. 역 추출(back extraction)의 상 분리 시간은 대조군 대비 각각 40.7-56.2%(초음파 파워 80 W), 46.3-67.6%(초음파 파워 180 W), 51.9-67.6%(초음파 파워 250 W) 감소하였다. 초음파 파워(80-250 W)와 초음파 조사 시간(0.5-2.5 시간)이 증가할수록 상 분리 시간이 감소하였다.

Abstract – In this study, an ultrasound-assisted micellar extraction process was developed to efficiently purify the anticancer substance paclitaxel from the plant cell *Taxus chinensis*. The problem of many extraction steps and long phase separation time in the traditional micellar process could be dramatically improved. The highest paclitaxel yield (~96%, extracted twice) was obtained at 180 W of ultrasonic power and 1.5 h of ultrasonic irradiation time, which was 24.7% higher than that of the traditional method. In addition, the partition coefficient (K) showed a maximum value (24.0) at 180 W of ultrasonic power and 1.5 h of irradiation time. There was no significant difference in the purity of paclitaxel, and the purity of initial paclitaxel (6.81%) increased to 22.0% after purification. Compared to the traditional method, the phase separation time of the back extraction decreased by 40.7-56.2% (ultrasonic power 80 W), 46.3-67.6% (ultrasonic power 180 W), and 51.9-67.6% (ultrasonic power 250 W), respectively. The phase separation time decreased as the ultrasonic power (80-250 W) and irradiation time (0.5-2.5 h) increased.

Key words: Paclitaxel, Ultrasound-assisted micellar extraction, Purification

1. 서 론

파클리탁셀(paclitaxel)은 주목(yew tree)의 표피에서 발견된 항종양 활성을 갖는 알칼로이드 성분으로 난소암, 유방암, 두경부암, 카포시 종양, 비소세포성 폐암 등의 치료에 널리 사용되고 있다[1]. 파클리탁셀의 적응증과 처방 방법이 계속 개발되고 있어 향후 파클리탁셀 수요는 계속 늘어날 전망이다[2,3]. 주요 생산 방법으로 추

출, 반합성, 식물세포배양이 있는데[4-6], 이중 식물세포배양은 다른 방법에 비해 외부 인자의 영향이 적고, 생물반응기에서 일정한 품질의 파클리탁셀을 대량 생산할 수 있는 장점이 있다[6,7].

식물세포배양으로부터 파클리탁셀을 생산하기 위해서는 여러 단계의 분리 및 정제 공정을 거친다. 일반적으로 세포 배양액으로부터 회수한 식물 세포(biomass)를 유기 용매로 먼저 추출한 다음 전처리 공정을 거쳐 최종 정제를 통하여 제품을 생산하는 공정으로 이루어져 있다[8-10]. 이 과정 중 특히 전처리 공정은 최종 정제 비용에 많은 영향을 미친다. 따라서 전처리 공정을 통하여 시료의 순도를 가능한 높여 주어야 최종 정제, 특히 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용한 정제에서의 비용을 줄일 수 있다.

[†]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.

Kim [11]은 파클리탁셀의 전 처리(pre-purification)를 위하여, 계면활성제(surfactant)를 이용한 마이셀 추출(micellar extraction) 공정이 최초로 보고하였다. 친수성 그룹(hydrophilic group)과 소수성 그룹(hydrophobic group)으로 구성되어 있는 계면활성제를 이용한 마이셀 형성과 상 분리(phase separation)로 불순물을 제거하는 전처리 공정이다. 마이셀 추출은 저비용(계면활성제와 용매 재사용), 편리성, 스케일-업 용이성 뿐만 아니라 제품의 활성과 형태에 악영향(damage)을 주지 않는 장점이 있다[12]. Jeon과 Kim[8,13]은 항암제 파클리탁셀 전 처리를 위한 마이셀 추출의 주요 공정 변수 최적화와 마이셀 공정에서 계면활성제 종류의 영향에 대한 연구를 수행하였다. Han 등[14]은 마이셀 추출-분별 침전 하이브리드 공정에 의한 파클리탁셀 정제 방법을 소개하였다. 최근에는 액-액 추출 과정에 초음파(ultrasound)를 도입함으로써 추출 효율을 향상시키는 연구들이 수행되고 있다[15-19]. 이러한 추출 효율의 향상은 초음파가 조사된 액체에서 미세 기포의 형성(formation), 성장(growth), 붕괴(collapse)를 포함한 음향 공동화(acoustic cavitation) 현상에 의한 물질 전달 저항의 감소로 설명되고 있다. 하지만 초음파를 이용한 마이셀 추출에 대한 연구는 여전히 부족한 실정이며, 더욱이 초음파를 이용한 파클리탁셀의 마이셀 추출에 대한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 바이오매스 유래 파클리탁셀의 전처리를 위하여 계면활성제를 이용한 마이셀 공정에서 초음파의 영향에 대해 자세히 조사하였다. 이를 통해 기존 마이셀 공정, 특히 역 추출(back extraction) 단계에서의 많은 추출 횟수와 긴 상 분리 시간 문제를 획기적으로 개선하고자 하였다. 이러한 연구결과는 바이오매스 유래 파클리탁셀 정제에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

2. 재료 및 방법

2-1. 식물세포 배양

본 실험에 사용된 식물 세포 배양액은 *Taxus chinensis*의 잎으로부터 얻은 세포주(cell line)를 이용하여 배양하였다[20]. 배양액으로부터 식물세포 회수를 위하여 먼저 데칸터 원심분리기(>4,500 g) (Westfalia, CA 150 Clarifying Decanter)를 이용하여 1차 회수하였으며, 입자가 작은 식물세포 조각(debris) 회수를 위하여 고속 원심분리기(>10,000 g) (α -Lavel, BTRX 205GD-35 CDEFP)를 이용하여 2차 회수하였다. 회수한 식물 세포와 세포 조각을 합하여 바이오매스라 하였다. 본 연구에 사용된 바이오매스는 (주)삼양바이오 팜으로부터 제공받았다.

2-2. 시료 준비

식물세포 배양액으로부터 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 감압 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[13]. 건조된 시료의 순도는 6.81%이었다. 제조된 시료를 마이셀 공정에 이용하였다.

2-3. 마이셀 공정

전 추출(forward extraction): 파클리탁셀(순도: 6.81%)을 유기 용매인 MtBE (methyl-t-butyl-ether)에 녹인 후 계면활성제인 CPC (N-cetylpyridinium chloride) 용액과 헥산을 넣고 교반하였다. 일정 시간 교반 후 정체시켜 마이셀 형성과 상 분리(phase separation)를 유도하였다. 상 분리가 일어나면 마이셀이 형성되어 있는 하층(bottom phase)인 CPC 용액 층을 회수하였으며 동일한 조건으로 2회 반복 추출을 수행하였다. 역 추출(back extraction): 2회 반복 추출을 통하여 회수한 CPC 용액에 다시 MtBE를 넣어 상 분리하고 하층인 CPC 용액으로부터 마이셀을 분해시켜 상층(top phase)인 MtBE 층으로 파클리탁셀을 회수하였으며 동일한 조건으로 2회 반복 추출을 수행하였다. 초음파 파위에 따른 영향을 조사하기 위하여 초음파 조사 시간(0.5, 1.5, 2.5 시간)을 달리하여 40 kHz ultrasonic bath(UC-10, Jeiotech, Korea)에서 초음파 파워(80 W, 180 W, 250 W) 변화에 따른 파클리탁셀 수율, 순도 및 상 분리 시간을 조사하였다. 초음파 파워는 파클리탁셀의 분해와 조업 효율을 고려하여 300 W 미만으로 선정하였다[15]. 역 추출에서 파클리탁셀이 포함된 상층(MtBE 층)을 회수하여 농축하고 진공오븐(UP-2000, EYELA, Japan)에서 24시간 건조시킨 후 HPLC로 분석하였다. 마이셀 추출 공정의 개략도를 Fig. 1에 나타내었다.

2-4. 파클리탁셀 분석

파클리탁셀 함량 분석을 위해 HPLC 시스템(SCL-10AVP, Shimadzu, Japan)과 Capcell Pak C18 컬럼(250 mm × 4.6 mm; Shiseido, Japan)을 사용하였다. 이동상은 아세트나이트릴과 증류수 혼합 용액(65/35-35/65, v/v, gradient mode)을 유속 1.0 mL/min으로 흘려주었다. 시료 주입량은 20 μ L이며 227 nm에서 UV 검출기에 의해 검출하였다[20]. HPLC 분석은 표준정량곡선을 이용하였으며 표준시료는 (주)삼양바이오 팜 제품(파클리탁셀 순도: 98.7%)을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서 제안한 전처리 공정은 계면활성제를 이용한 마이셀 형성과 상 분리에 의하여 불순물을 제거하는 새로운 개념의 전처리 공정이다(Fig. 1). 마이셀은 친수성 그룹(hydrophilic group)과 소수성 그룹(hydrophobic group)으로 구성되어 있어 마이셀 내부로는 물에 녹지 않는 파클리탁셀을 소수성 그룹이 감싸게 되고 외부는 친수성 그룹이 되어 수용액에 용해될 수 있게 된다. 따라서 식물세포인 바이오매스로부터 유기용매 추출액을 건조하여 상 분리에 적합한 유기용매에 녹인 후 마이셀 형성에 적합한 계면활성제를 첨가하고 교반한 후 정체 시키면 물에 녹지 않는 파클리탁셀이 마이셀 내부의 소수성 그룹에 감싸여 수용액 상으로 이동하고 파클리탁셀을 제외한 여러 가지 불순물들(특히 pigments, liquid 성분들)은 유기용매 상에 그대로 존재하게 되어 파클리탁셀과 불순물을 효율적으로 분리하게 된다. 본 실험에서는 초음파가 마이셀 공정(특히 역 추출)에 미치는 영향(파클리탁셀 수율, 순도, 상 분리 시간)을 조사하였다. 본 연구는 기존 연구결과[8,11,13]의 최적의 조건에서 수행하였다. 계면활성제는 CPC, CPC 농도는 5%, 유기 용매는 MtBE/Hexane 혼합 용액, 혼합 비율은 1/1(v/v), 초기 파클리탁셀의 농도는 16.4 mg/mL로 각각 정하였다.

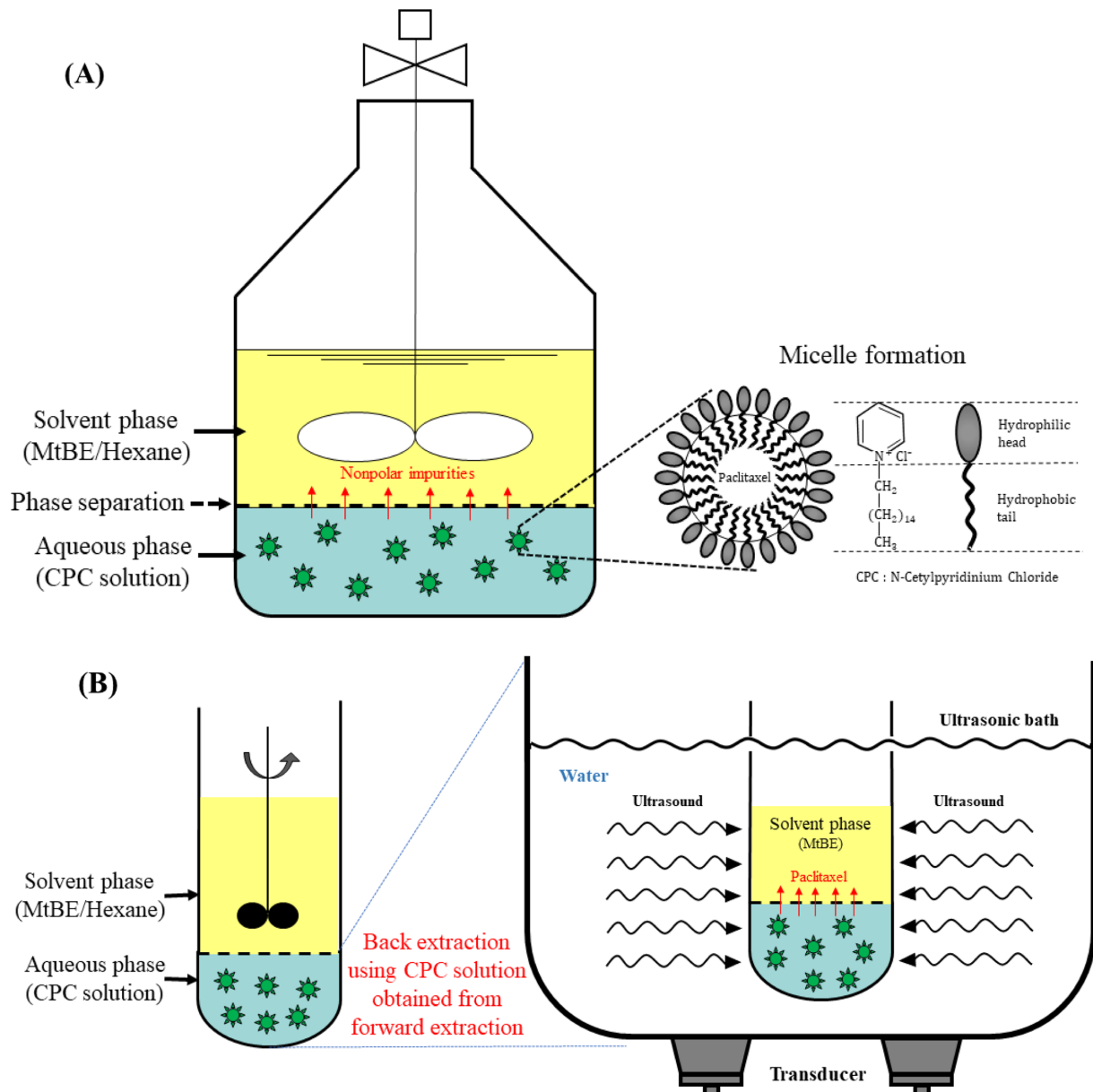


Fig. 1. Schematic diagram of forward extraction (A) and back extraction in the micellar extraction process.

3-1. 초음파가 수율에 미치는 영향

초음파를 도입하지 않은 전통적 마이셀 추출(대조군)과 초음파를 도입한 마이셀 추출 수율을 Fig. 2에 나타내었다. 대조군의 경우 1회 추출과 2회 추출에서의 누적 파클리탁셀 수율은 각각 69%와 77%이었으며, 이는 기존 문헌에서의 수율(65-75%)과 유사함을 알 수 있었다[8]. 초음파가 도입된 추출의 경우 누적 파클리탁셀 수율(1회 추출/2회 추출)은 초음파 조사 0.5, 1.5, 2.5 시간에서 초음파 파워 80 W의 경우 각각 77%/82%, 81%/91%, 79%/88% (Fig. 2(A)), 초음파 파워 180 W의 경우 각각 83%/90%, 85%/96%, 84%/95% (Fig. 2(B)), 초음파 파워 250 W의 경우 각각 77%/86%, 83%/93%, 77%/89% (Fig. 2(C))이었다. 초음파 파워 180 W, 초음파 조사 시간 1.5 시간에서 가장 높은 파클리탁셀 수율(96%, 1회/2회 누적)을 얻어 단 2회 추출로 대부분의 파클리탁셀 회수가 가능하였다. 유사한 수율을 얻기 위해 기존 마이셀 공정에서는 4회 이상의 추출이 요구되는 것에 비해 추출 횟수를 상당히 줄일 수 있었다[13]. 이는

대조군의 수율에 비해 24.7% 증가하였다. 다른 초음파 파워에서도 초음파 조사 시간 1.5 시간에서 가장 높은 수율을 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 음향 공동화 현상에 의한 물질 전달 저항의 감소에 기인하는 것으로 판단된다[17]. 즉, 캐비테이션 버블의 붕괴(collapse)로 발생하는 추출 용액에서의 고속 마이크로젯(high-speed microjets), 강렬한 국소 가열(intense localized heating), 고압 충격파(high-pressure shock waves)가 물질 전달을 촉진하기 때문이다. 또한 초음파 조사 시간 2.5 시간에서는 1.5 시간에 비해 수율이 비슷하거나 오히려 조금 감소하는 경향을 보였다. 이는 높은 초음파 파워에 장시간 노출에 따른 파클리탁셀의 분해(degradation) 때문으로 판단된다[17]. 즉, 높은 초음파 파워는 캐비테이션보다는 액체 교반(agitation)을 유발하고 제어되지 않는 기계적 전단(mechanical shear)을 마이셀 추출 시스템에 전달하는 액체 매체를 통한 초음파 순환을 감소시킨다. 이와 유사한 결과는 초음파/수성2상계(ultrasound/aqueous two-phase system)를 이용한 *Salvia miltiorrhiza*

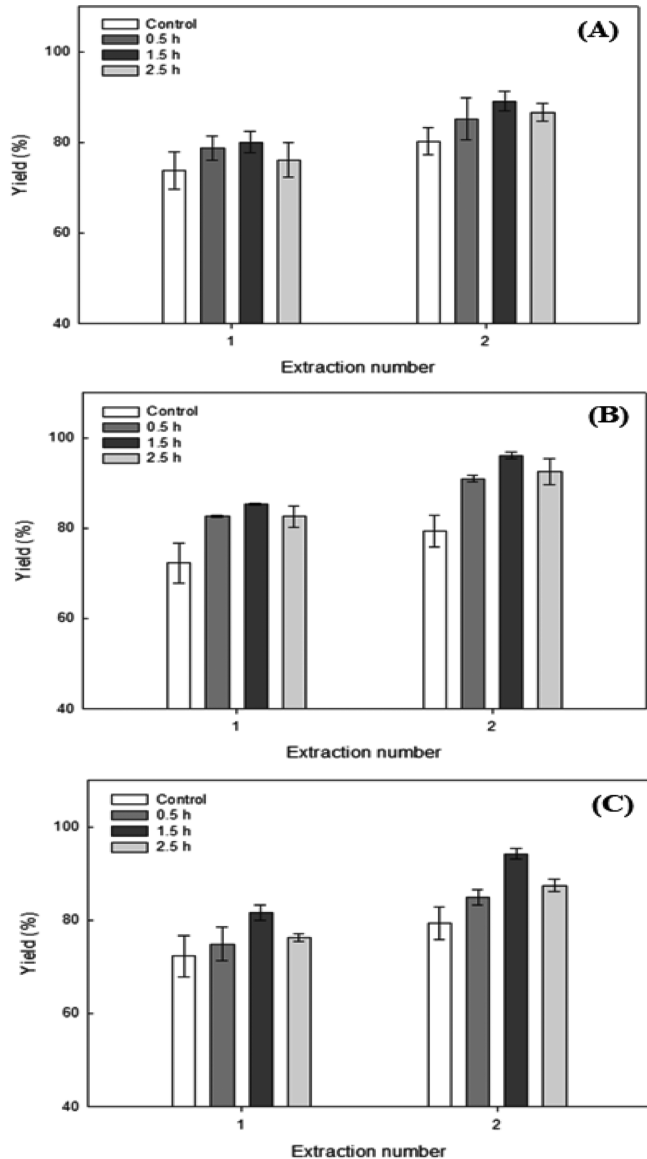


Fig. 2. Effect of ultrasound on the yield of paclitaxel at different ultrasonic irradiation times (0.5 h, 1.5 h, and 2.5 h): (A); Ultrasonic power 80 W, (B); Ultrasonic power 180 W, and (C); Ultrasonic power 250 W.

Bunge로부터 lithospermic acid B 추출에서 보고되었다[21].

마이셀 공정의 역 추출 과정에서 먼저 상층인 MtBE 층과 하층인 CPC 용액 층으로 상 분리되는데, 파클리탁셀은 유기용매 MtBE 층으로부터 회수된다. 하층에서의 파클리탁셀 농도에 대한 상층에서의 파클리탁셀 농도 비를 분배 계수(partition coefficient, K)로 정의되는데, 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$K = \frac{\text{Paclitaxel concentration in top phase}}{\text{Paclitaxel concentration in bottom phase}} \quad (1)$$

Table 1에서 보는 바와 같이 대조군의 경우 분배 계수가 3.4인 반면 초음파가 도입된 추출의 경우 추출 0.5, 1.5, 2.5 시간에서 각각 4.6, 10.1, 7.3(80 W), 9.0, 24.0, 19.0(180 W), 6.1, 13.3, 8.1(250 W)이었다. 추출 0.5, 1.5, 2.5 시간에서 대조군 대비 1.4, 3.0, 2.1배(80 W), 2.6, 7.1, 5.6배(180 W), 1.8, 3.9, 2.4배(250 W) 증가하였다. 결국 분배 계수는 초음파 파워 180 W, 조사 시간 1.5 시간에서 최대치를 보였다.

3-2. 초음파가 순도에 미치는 영향

대조군의 경우 1회 추출과 2회 추출에서의 파클리탁셀 순도는 각각 24%와 11%이었다. 또한 초음파 조사 시간 0.5, 1.5, 2.5 시간에서 파클리탁셀 순도(1회 추출/2회 추출)는 초음파 파워 80 W의 경우 각각 24%/7%, 26%/8%, 22%/6%(Fig. 3(A)), 초음파 파워 180 W의 경우 각각 24%/9%, 25%/10%, 22%/8%(Fig. 3(B)), 초음파 파워 250 W의 경우 각각 24%/7%, 25%/8%, 21%/7%(Fig. 3(C))이었다. 추출 횟수가 증가할수록 파클리탁셀의 순도는 감소하였는데, 이는 추출 횟수가 증가할수록 하층인 CPC 용액으로부터 불순물이 더 많이 추출되어 상층인 MtBE 층으로 이동하기 때문이다. 이러한 결과는 추출 횟수 증가에 따라 파클리탁셀 순도가 감소한 이전의 연구결과와 일치하였다[8]. 또한 1회 및 2회 추출물의 평균 순도를 Fig. 3(D)에 나타내었다. 평균 순도는 대조군의 경우 22%, 초음파 조사 0.5, 1.5, 2.5 시간에서 각각 21, 21, 18%(80 W), 21, 22, 19%(180 W), 19, 20, 17%(250 W)이었다. 전반적으로 평균 순도 20% 전후로 큰 차이가 없었지만 강한 초음파 파워(250 W)에서 장시간(2.5 시간) 조사할 경우 파클리탁셀 순도가 조금 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 수율의 경우와 마찬가지로 높은 초음파 파워에 장시간 노출에 따른 파클리탁셀의 분해(degradation) 때문으로 판단된다[18].

3-3. 초음파가 상 분리 시간에 미치는 영향

마이셀 공정의 역 추출 과정에서 상 분리에 소요되는 시간을 Fig. 4에 나타내었다. 대조군의 경우 1회 추출과 2회 추출에서의 상 분리 시간은 각각 108분과 169분이었다. 추출 시간 0.5/1.5/2.5 시간에서 1회 및 2회 추출의 상 분리 시간은 초음파 파워 80 W의 경우 각각 64분/84분, 54분/78분, 50분/74분(Fig. 4(A)), 초음파 파워 180 W의 경우 각각 58분/76분, 35분/63분, 35분/58분(Fig. 4(B)), 초음파 파워 250 W의 경우 각각 52분/66분, 37분/62분, 35분/55분(Fig. 4(C))이었다. 모든 조건에서 1회 추출보다는 2회 추출에서 좀 더 긴 상 분리 시간이 요구되었다. 또한 초음파 조사 시간 0.5-2.5 시간 범위에서 상 분리 시간은 대조군 대비 각각 80 W의 경우 40.7-53.7%(1회), 50.3-56.2%(2회), 180 W의 경우 46.3-67.6%(1회), 55.0-65.7%(2회), 250 W의 경우 51.9-67.6%(1회), 60.9-67.5%(2회) 감

Table 1. Partition coefficient (K) of paclitaxel at different ultrasonic powers and irradiation times

Extraction type	Ultrasonic power (W)	Partition coefficient at 0.5 h ^a	Partition coefficient at 1.5 h ^a	Partition coefficient at 2.5 h ^a
Control	-	3.4±0.2	3.4±0.2	3.4±0.2
Ultrasonic extraction	80	4.6±0.3	10.1±0.6	7.3±0.4
	180	9.0±0.5	24.0±0.7	19.0±0.6
	250	6.1±0.3	13.3±0.6	8.1±0.4

^aData are shown as partition coefficient ± SD.

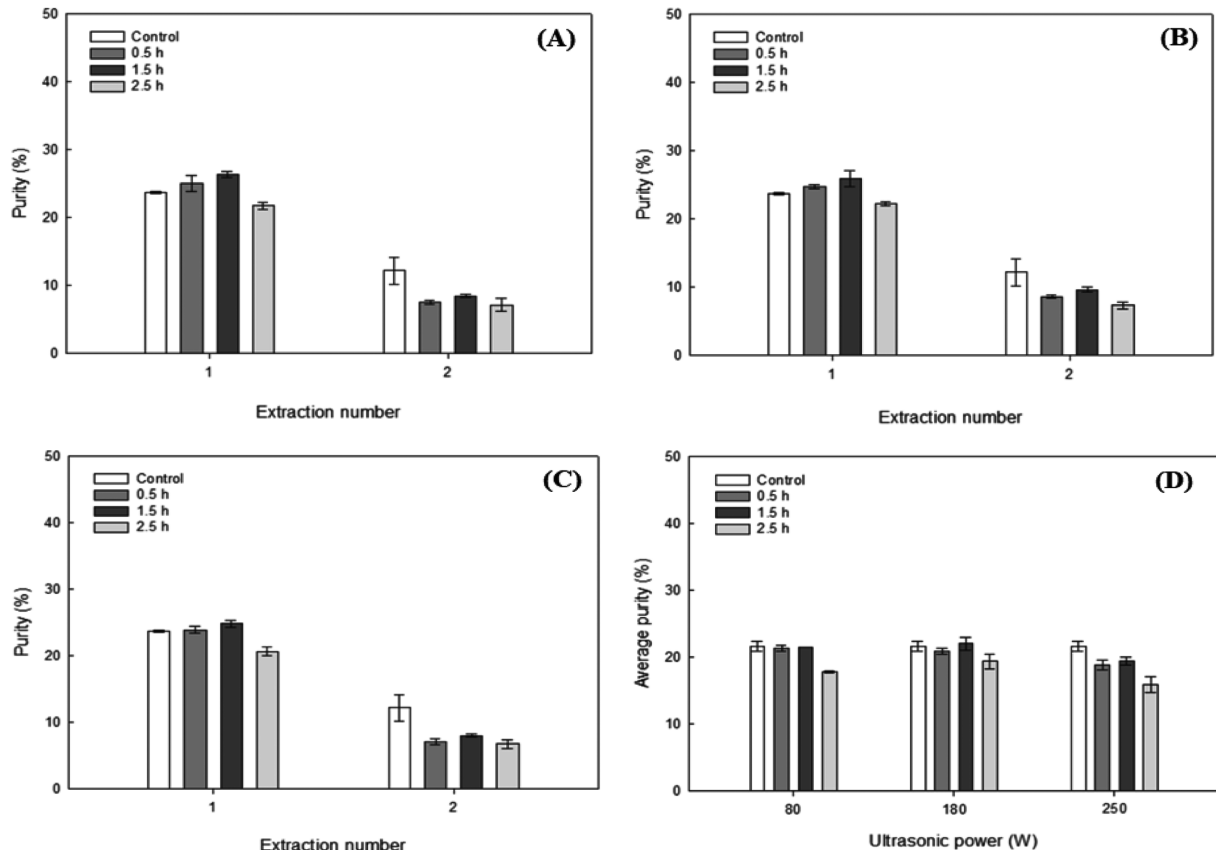


Fig. 3. Effect of ultrasound on the purity of paclitaxel at different ultrasonic irradiation times (0.5 h, 1.5 h, and 2.5 h): (A); Ultrasonic power 80 W, (B); Ultrasonic power 180 W, (C); Ultrasonic power 250 W, and (D); Average purity.

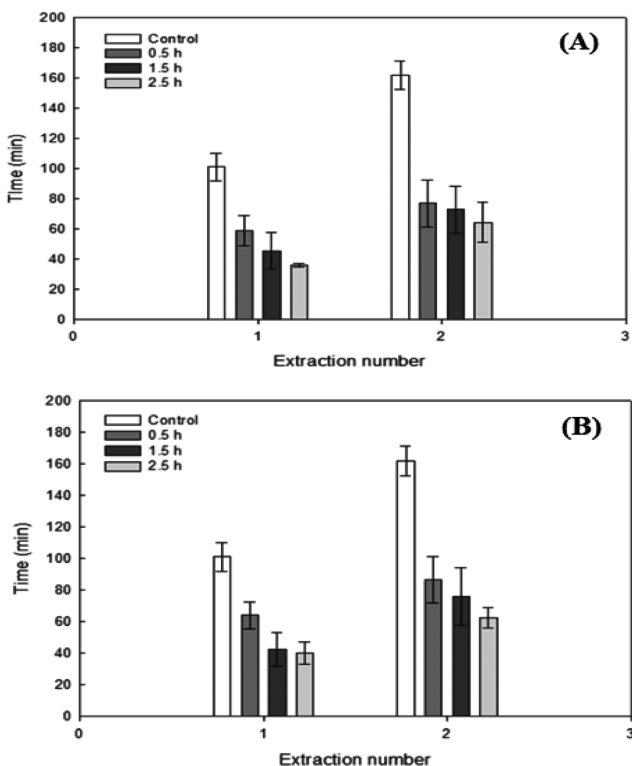


Fig. 4. Effect of ultrasound on the back extraction time at different ultrasonic irradiation times (0.5 h, 1.5 h, and 2.5 h): (A); Ultrasonic power 80 W, (B); Ultrasonic power 180 W, and (C); Ultrasonic power 250 W.

소하였다. 대조군에 비해 초음파를 조사할 경우 전반적으로 상 분리에 소요되는 시간이 획기적으로 감소하였다. 더 나아가 초음파 파워(80-250 W)와 추출 시간(0.5-2.5 시간)이 증가할수록 상 분리 시간이 감소하였다. 이러한 결과는 음향 공동화 현상에 의한 물질 전달 저항의 감소에 기인하는 것으로 판단된다[18].

최적의 조건 하에서 액/액 추출로부터 얻은 시료(파클리탁셀 순도: 6.81%)를 마이셀 공정으로 전 처리할 경우 높은 순도(22.0%)의 파클리탁셀을 짧은 상 분리 시간으로 고수율(96%)로 얻을 수 있었다. 또한 초음파-마이셀 공정 전후 시료의 HPLC 크로마토그램을 비교한 결과, 마이셀 공정에서 전 추출(forward extraction)에서 비극성 불순물, 역 추출(back extraction)에서 극성 불순물을 각각 제거하는데 효과적이었다. 마이셀 추출은 화학 및 생화학 산업에서 기존 액-액 추출 시스템을 사용하여 공정을 수행할 수 있기 때문에 대규모 작업에 매력적인 분리 방법이다. 이러한 초음파-마이셀 추출 방법은 파클리탁셀 정제의 후속 단계의 크기와 복잡성을 최소화하는데 기여할 수 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 식물 세포 *Taxus chinensis*로부터 파클리탁셀을 효율적으로 정제하기 위하여, 초음파를 이용한 마이셀 추출로 다단계 추출과 긴 상 분리 시간 문제를 획기적으로 개선하였다. 초음파 파워 180 W, 초음파 조사 시간 1.5 시간에서 가장 높은 파클리탁셀 수율(96%, 1회/2회 누적)을 얻었으며, 이는 대조군의 수율에 비해

24.7% 증가하였다. 다른 초음파 파워에서도 초음파 조사 시간 1.5 시간에서 가장 높은 수율을 얻을 수 있었다. 또한 분배 계수는 초음파 파워 180 W, 조사 시간 1.5 시간에서 최대치(24.0)를 보였다. 또한 초기 파클리탁셀의 순도(6.81%)가 정제 후 22.0%까지 증가하였다. 전반적으로 평균 순도 20% 전후로 큰 차이가 없었지만 강한 초음파 파워(250 W)에서 장시간(2.5 시간) 조사할 경우 파클리탁셀 순도가 조금 감소하는 경향을 보였다. 모든 조건에서 1회 추출보다는 2회 추출에서 좀 더 긴 상 분리 시간이 요구되었다. 또한 상 분리 시간은 대조군 대비 각각 80 W의 경우 40.7-53.7%(1회), 50.3-56.2%(2회), 180 W의 경우 46.3-67.6%(1회), 55.0-65.7%(2회), 250 W의 경우 51.9-67.6%(1회), 60.9-67.5%(2회) 감소하였다. 전반적으로 상 분리에 소요되는 시간이 획기적으로 감소하였다. 더 나아가 초음파 파워(80-250 W)와 추출 시간(0.5-2.5 시간)이 증가할수록 상 분리 시간이 감소하였다.

감 사

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

References

- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Removal of Residual Toluene and Methyl Tertiary Butyl Ether from Amorphous Paclitaxel by Simple Rotary Evaporation with Alcohol Pretreatment," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **25**, 86-93(2020).
- Yang, J. W. and Kim, J. H., "Evaluation of Adsorption Characteristics of 2-picoline Onto Sylopute," *Korean Chem. Eng. Res.*, **57**, 210-218(2019).
- Hsiao, J. R., Leu, S. F. and Huang, B. M., "Apoptotic Mechanism of Paclitaxel Induced Cell Death in Human Head and Neck Tumor Cell Lines," *J. Oral Pathol. Med.*, **38**, 188-197(2009).
- Rao, K. V., Hanuman, J. 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., 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).
- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Removal of Residual Chloroform from Amorphous Paclitaxel Pretreated by Alcohol," *Korean J. Chem. Eng.*, **36**, 1965-1970(2019).
- Jeon, K. Y. and Kim, J. H., "Optimization of Micellar Extraction for the Pre-purification of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **12**, 354-358(2007).
- 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).
- Seo, H. W. and Kim, J. H., "Ultrasound-assisted Fractional Precipitation of Paclitaxel from *Taxus chinensis* Cell Cultures," *Process Biochem.*, **87**, 238-243(2019).
- Kim, J. H., "Prepurification of Paclitaxel by Micelle and Precipitation," *Process Biochem.*, **39**, 1567-1571(2004).
- Zhu, K. X., Sun, X. H. and Zhou, H. M., "Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Defatted Wheat Germ Proteins by Reverse Micelles," *J. Cereal Sci.*, **50**, 266-271(2009).
- Jeon, K. Y. and Kim, J. H., "Effect of Surfactant on the Micelle Process for the Pre-purification of Paclitaxel," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 557-560(2008).
- Han, M. G., Jeon, K. Y., Mun, S. 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).
- Ha, G. S. and Kim, J. H., "Ultrasound-assisted Liquid-liquid Extraction for Recovery of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**, 229-233(2016).
- Tan, Z., Li, Q., Wang, C., Zhou, W., Yang, Y., Wang, H., Yi, Y. and Li, F., "Ultrasonic Assisted Extraction of Paclitaxel from *Taxus x media* Using Ionic Liquids as Adjuvants: Optimization of the Process by Response Surface Methodology," *Molecules*, **22**, 1483-1493(2017).
- Patil, S. S. and Rathod, V. K., "Synergistic Effect of Ultrasound and Three Phase Partitioning for the Extraction of Curcuminoids from *Curcuma longa* and Its Bioactivity Profile," *Process Biochem.*, **93**, 85-93(2020).
- Cao, J., Peng, L. Q., Du, L. J., Zhang, Q. D. and Xu, J. J., "Ultrasound-assisted Ionic Liquid-based Micellar Extraction Combined with Microcrystalline Cellulose as Sorbent in Dispersive Microextraction for the Determination of Phenolic Compounds in Propolis," *Anal. Chim. Acta*, **963**, 24-32(2017).
- Ziyatdinova, G., Ziganshina, E., Cong, P. N. and Budnikov, H., "Ultrasound-assisted Micellar Extraction of Phenolic Antioxidants from Spices and Antioxidant Properties of the Extracts Based on Coulometric Titration Data," *Anal. Methods*, **8**, 7150-7157(2016).
- Kim, J. H., "Comparison of Conventional Solvent Extraction, Microwave-assisted Extraction, and Ultrasound-assisted Extraction Methods for Paclitaxel Recovery from Biomass," *Korean Chem. Eng. Res.*, **58**, 273-279(2020).
- Guo, Y. X., Han, J., Zhang, D. Y., Wang, L. H. and Zhou, L. L., "An Ammonium Sulfate/ethanol Aqueous Two-phase System Combined with Ultrasonication for the Separation and Purification of Lithospermic Acid B from *Salvia miltiorrhiza* Bunge," *Ultrason. Sonochem.*, **19**, 719-724(2012).