

## *Taxus chinensis*로부터 파클리탁셀 정제를 위한 음압 캐비테이션 아세톤-펜테인 분별침전

민혜수 · 김진현<sup>†</sup>

공주대학교 화학공학부, 미래지속가능기술연구소  
31080 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24  
(2022년 4월 1일 접수, 2022년 4월 19일 수정본 접수, 2022년 5월 17일 채택)

### Negative Pressure Cavitation Acetone-Pentane Fractional Precipitation for the Purification of Paclitaxel from *Taxus chinensis*

Hye-Su Min and Jin-Hyun Kim<sup>†</sup>

Center for Future Sustainable Technology, Department of Chemical Engineering, Kongju National University,  
Cheonan, 31080, Korea

(Received 1 April 2022; Received in revised from 19 April 2022; Accepted 17 May 2022)

#### 요 약

본 연구에서는 음압 캐비테이션 아세톤-펜테인 분별침전으로 *Taxus chinensis*로부터 파클리탁셀의 침전 효율을 획기적으로 개선하였다. 음압 -200 mmHg에서 침전할 경우 짧은 조업 시간(5분)에 대부분의 파클리탁셀을 회수(>99.9%)할 수 있었다. 침전 속도 상수는 대조군 대비 1.512~5.073배(-50~-200 mmHg) 증가하였다. 음압으로 활성화에너지는 -3,737~-6,536 J/mol 감소하였으며, 이로 인해 침전 속도가 증가하였다. 또한 음압 도입으로 침전물 크기는 5.3배 감소하였으며, 파클리탁셀의 확산 계수는 7.0배 증가하였다.

**Abstract** – This study presents the negative pressure cavitation acetone-pentane fractional precipitation to dramatically improve the precipitation efficiency of paclitaxel from *Taxus chinensis*. When paclitaxel was precipitated under a negative pressure of -200 mmHg, most paclitaxel (>99.9%) could be recovered in a short precipitation time (5 min). The precipitation rate constant increased by 1.512~5.073 times (at -50 mmHg to -200 mmHg) compared to the control. The activation energy decreased by -3,737~-6,536 J/mol due to negative pressure, which increased the precipitation rate. With the introduction of negative pressure, the precipitate size decreased by 5.3 times, and the diffusion coefficient of paclitaxel increased by 7.0 times.

Key words: Paclitaxel, Acetone-pentane fractional precipitation, Negative pressure, Cavitation, Kinetics

#### 1. 서 론

파클리탁셀(Paclitaxel;  $C_{47}H_{51}NO_{14}$ , M.W.: 853.9)은 태평양 주목 나무인 *Taxus brevifolia*의 표피에서 분리된 테트라사이클릭 디테르페노이드 계열의 천연 화합물로 미세소관(microtubule)의 안정성 향상으로 해중합(depolymerization)을 저해하여 종양 세포 사멸을 유도한다. 파클리탁셀은 유방암, 자궁내막암, 비소세포 폐암, 방광암, 자궁경부암 등에 항암 활성을 보이는 가장 널리 사용되는 화학항암제 중 하나이다[1-3]. 파클리탁셀은 원래 *T. brevifolia*에서 발견

되었지만, 유럽 주목(*T. baccata*) 또는 중국 주목(*T. chinensis*)과 같은 다른 *Taxus* 종에도 존재하는 것으로 보고되었다[4]. 파클리탁셀은 1971년에 항암 활성이 처음 보고되었으며[5], 미국 식품의약국(FDA)으로부터 1992년에 난소암 치료제로 승인되었고, 1994년과 1999년에는 진행성 유방암과 초기 유방암 치료제로 각각 승인되었다[1]. 파클리탁셀의 적응증 확대와 처방법 개발로 그 수요는 계속 늘어날 전망이다[6-8]. 글로벌 파클리탁셀 시장 규모(원료의약품 기준)는 2020년 1억 1,740만 달러에서 2026년까지 1억 9,360만 달러에 이를 것으로 예상되며, 2021-2026년 연평균 성장률은 8.7%에 달할 것으로 예상된다[9]. 파클리탁셀의 주요 생산 방법에는 주목으로부터 직접 추출, 전구체를 이용한 반합성, 식물체로부터 유도된 캘러스(callus)를 이용한 식물체세포배양이 있다[10-12]. 이들 중 식물체세포배양은 외부 인자(기후, 환경)의 영향이 적어 안정적으로 생산이 가능하며, 생물반응기에서 일정한 품질의 파클리탁셀을 지속적으로 생

<sup>†</sup> 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.

산할 수 있는 장점이 있다[13,14].

식물세포배양에서 파클리탁셀은 대부분 바이오매스(식물세포)에 축적되어 있으며 여러 단계의 추출, 전 처리 및 최종 정제를 통해 파클리탁셀이 생산된다. 추출 후 이루어지는 전처리 정제 공정은 최종 정제 비용에 많은 영향을 미친다[15,16]. 따라서 전 처리 공정을 통하여 시료의 순도를 가능하면 높여 주어야 최종 정제, 특히 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 정제에서의 비용을 줄일 수 있다[17]. 전 처리 공정 중 하나인 분별침전(fractional precipitation)은 파클리탁셀의 용해도 차이를 이용한 간단하고 효율적인 방법이다. 2000년 식물세포 유래 파클리탁셀의 분별침전 방법이 최초로 보고되었으며[18], 이후 조업 변수(용매, 온도, 시료 종류 등)의 최적화로 높은 순도의 파클리탁셀을 고수율로 얻을 수 있었다[19,20]. 하지만 분별침전이 저온에서 장시간 조업이 이루어지기 때문에 경제성 측면에서 파클리탁셀 대량생산 공정에 적용하기에 한계가 있다. 이러한 문제점을 개선하기 위하여, 침전기 내부 표면적을 증가시켜 침전 효율을 향상시키려는 연구가 시도되었다[21,22]. 최근에는 침전 과정에 초음파를 도입함으로써 핵 생성 속도를 증가시켜 침전 시간을 획기적으로 단축할 수 있었다[23]. 이러한 결과는 초음파 캐비테이션(ultrasonic cavitation)에 기인하는 것으로 캐비테이션 버블이 압축과 팽창 과정에서 결국 불안정 해져서 붕괴되어 침전 용액의 마이크로젯(microjet), 강열한 국소 가열, 고압 충격파(shock wave)가 발생되기 때문으로 설명되고 있다[24]. 하지만 초음파 분별침전의 경우 조업 시간을 절감할 수 있으나 추가 장치 및 에너지 비용이 발생하고 공정이 복잡할 수 있어, 공정 효율성뿐만 아니라 공정 편리성(convenient)과 실행 가능성(feasibility)이 담보되는 새로운 분별침전 기술이 여전히 필요한 실정이다. 이를 위해 음압 캐비테이션(negative pressure cavitation) 기반 분별침전 기술에서 아이디어를 착안하여 본 연구에서는 파클리탁셀의 효율적 정제를 위한 새로운 친환경 음압 캐비테이션 분별침전 공정을 개발하고 주요 공정 변수(음압 및 조업 시간)를 최적화하였다. 더 나아가 기존 메탄올-물 분별침전에서 주로 극성 불순물 제거에 한정되었는데, 이러한 한계를 극복하고 침전 용매의 다양성을 확보하기 위하여 아세톤-펜테인 용매 시스템을 적용하였다. 음압 캐비테이션 분별침전은 에너지를 효율적으로 활용하면서도 적은 자본 투자로 더 빠르고 효과적인 침전을 포함하는 이점을 제공한다. 또한 음압 캐비테이션 아세톤-펜테인 분별침전 공정에 대한 동역학적 해석과 확산계수 계산을 통해 분별침전 특성을 정량적으로 해석하였다. 이러한 연구결과는 식물세포배양으로부터 항암물질 파클리탁셀의 환경친화적인 상업적 대량생산에 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 2. 재료 및 방법

### 2-1. 분별침전을 위한 시료 준비

*T. chinensis*로부터 기원된 현탁액 세포는 24 °C, 암 조건, modified Gamborg's B5 배지에서 150 rpm으로 교반하여 배양하였다[23,25]. 세포배양 후 decanter (CA150 Clarifying Decanter, Westfalia, Germany)와 고속원심 분리기(BTPX205GD-35CDEEP,  $\alpha$ -Laval, Sweden)를 이용하여 배양액으로부터 현탁세포(바이오매스)를 회수하였다. 바이오매스/메탄올 비 1:1 (w/v)로 혼합하여 추출한 후 메틸렌 클로라이드를 첨가(추출액의 25%)하여 액-액 추출을 수행하였다. 상 분리를 통해 하층인 메틸렌 클로라이드 층으로 파클리탁셀을 회수하여

농축/건조하였다. 건조된 추출물을 메틸렌 클로라이드에 녹인 후 (추출물/메틸렌 클로라이드=1:4, w/v) 흡착제(Sylopute) 처리(40 °C, 30분)하고 여과하였다. 여과액을 30 °C, 감압 하에서 건조하고, silica-gel 60N (Timely, Japan) 컬럼(elution: 1.5% (v/v) methanol in dichloromethane)을 통해 정제하고 순도 20.47%의 시료를 본 연구에 사용하였다.

### 2-2. 음압 캐비테이션 분별침전

음압이 없는 전통적 분별침전(대조군)과 음압 캐비테이션 분별침전의 개략도를 Fig. 1에 나타내었다. 아세톤-펜테인 분별침전을 위해 시료(순도: 20.47%)를 아세톤에 녹이고(16.7 g 시료/mL 아세톤), 아세톤/펜테인 비(v/v)가 1:7이 될 때까지 펜테인을 교반(335 rpm)하에 첨가하였다[23]. 음압의 영향을 조사하기 위하여, vacuum controller unit (EYELA NVC-3000, Japan)와 diaphragm vacuum pump (EYELA NVP-1000, Japan)를 이용하여 침전 용액 내로 음압을 가하였다. 침전온도 5 °C에서 음압(0, -50, -100, -150, -200 mmHg)과 조업 시간(1, 5, 10, 20 min)을 각각 변화시켜 침전 효율(침전 시간, 수율 및 순도)을 조사하였다. 침전 후 침전물을 여과지(185 mm, ADVANTEC)로 감압여과하여 40 °C에서 24 시간 동안 진공 오븐(UP-2000, EYELA, Japan)에서 건조하였다. 건조된 침전물의 파클리탁셀 함량은 HPLC로 분석하였다.

### 2-3. 파클리탁셀 분석

파클리탁셀 함량 분석을 위해 HPLC 시스템(SCL-10AVP, Shimadzu, Japan)과 Capell Pak C<sub>18</sub> (250 × 4.6 mm, Shiseido, Japan) 컬럼을 사용하

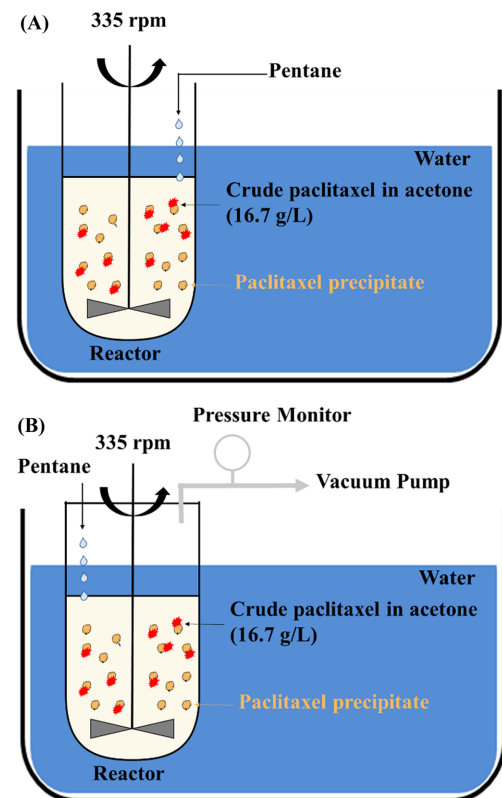


Fig. 1. Schematic diagram of (A) conventional fractional precipitation and (B) negative pressure cavitation acetone-pentane fractional precipitation for purification of paclitaxel.

였다. 이동상은 증류수와 아세토니트릴 혼합 용액(65/35~35/65, v/v, gradient mode)이며 유속은 1.0 mL/min이었다. 시료 주입량은 20  $\mu$ L이며 227 nm에서 UV에 의해 검출하였다[26]. 표준 시료(파클리탁셀 순도: 97%)는 Sigma-Aldrich에서 구입하였다.

#### 2-4. 침전물의 크기 측정

분별침전에서 수득한 침전물의 형태와 크기를 조사하기 위하여, 전자현미경(SV-35 Video Microscope System, Some Tech, Korea)을 사용하였다[15]. 침전물을 고배율(x200)에서 관찰하였으며, 침전물의 크기는 IT-Plus System (Some Tech, Korea)을 사용하여 비디오 이미지에서 측정하였다.

#### 2-5. 확산 계수 결정

분별침전 용매(A)에 확산되는 파클리탁셀 분자(B)의 확산 계수는 Stokes-Einstein 식으로부터 계산하였으며, 식 (1)과 같이 나타낼 수 있다[27].

$$D_{AB} = \frac{kT}{61.2\pi r_0 \eta} \quad (1)$$

여기서  $k$ 는 볼츠만상수( $1.38 \times 10^{-23}$  J/K),  $r_0$ 는 파클리탁셀 분자 반경,  $\eta$ 는 용액의 역학점도(dynamic viscosity),  $T$ 는 용액의 절대 온도를 나타낸다. 용액의 점도는 점도계(Viscolite 700, Hydromotion, UK)를 이용하여 측정하였다.

#### 2-6. 동역학적 모델(Kinetic model)

Johnson-Mehl-Avrami-Kolmogorov (JMAK) (isothermal phase-transformation)의 동역학을 다루고 있으며 식 (2)과 같이 표현된다[15,16].

$$X = 1 - e^{-kt^n} \quad (2)$$

식 (2)를 선형화하여 식 (3)를 얻을 수 있다.

$$\log\left(\ln\left(\frac{1}{1-X}\right)\right) = n \log t + \log k \quad (3)$$

식 (3)를 이용하여  $\log\left(\ln\left(\frac{1}{1-X}\right)\right)$  대  $\log t$ 를 도식화하고, 직선의 기울기와 절편으로부터  $n$ 과  $k$ 를 각각 얻었다. 여기에서  $X$ 는 침전물 분율,  $t$ 는 침전 시간,  $k$ 는 속도 상수,  $n$ 은 결정의 구조 및 결정 핵 생성의 특성을 묘사하는 Avrami 지수이다. 파클리탁셀의 분별침전 공정에서 동역학적 모델(JMAK 모델)의 유효성 확인을 위하여 결정계수(coefficient of determination,  $r^2$ )를 이용하였다. 결정계수는 1에 가까울수록 실험값과 계산값 사이의 오차가 작음을 의미한다.

활성화 에너지 변화량( $\Delta E_a$ )는 Arrhenius 식을 이용하여 계산하였으며 식 (4)과 같이 나타낼 수 있다[28].

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (4)$$

식 (4)를 직선 형태인 식 (5)로 나타낼 수 있다.

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (5)$$

여기에서  $k$ 는 속도 상수,  $A$ 는 빈도 인자(frequency factor),  $E_a$ 는 활성화에너지(J/mol),  $R$ 은 기체 상수(8.314 J/mol·K),  $T$ 는 절대온도(K)이다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3-1. 음압 캐비테이션 아세톤-펜테인 분별침전

분별침전은 용해도 차이를 이용한 간단하고 효율적인 파클리탁셀의 전처리 방법이다[18]. 하지만 전통적 분별침전의 경우 저온에서 긴 침전 시간이 요구되어 파클리탁셀의 대량 생산 공정에 적용하기에 한계가 있다[18-20,29]. 이러한 단점을 개선하기 위하여, 본 연구에서는 음압 캐비테이션 분별침전 방법을 도입하였다. 음압 도입이 없는 전통적 아세톤-펜테인 분별침전(대조군)과 음압(-50, -100, -150, -200 mmHg)을 도입한 아세톤-펜테인 분별침전 결과를 각각 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다. 대조군의 경우 파클리탁셀 수율 91.1%에 도달하는 데에 16시간의 침전 시간이 소요되었다. 반면 음압을

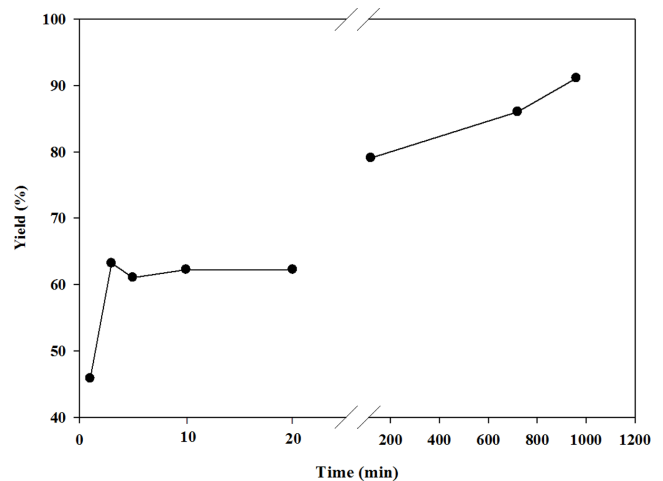


Fig. 2. Effect of precipitation time on the yield of paclitaxel obtained by conventional acetone-pentane fractional precipitation at 5 °C and atmospheric pressure.

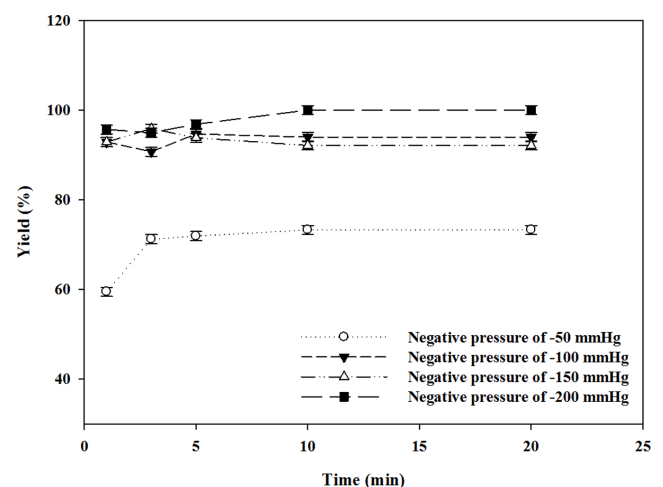


Fig. 3. Effect of negative pressures (-50, -100, -150, and -200 mmHg) on the yield of paclitaxel obtained by negative pressure cavitation acetone-pentane fractional precipitation at 5 °C.

**Table 1. Comparison of this study and previous studies for acetone-pentane fractional precipitation of paclitaxel**

Fractional precipitation method	Acetone-pentane ratio (v/v)	Storage temperature (°C)	Fractional precipitation time (hr)	Ref.
Conventional method	1:3~1:9	Low temp. (0~4)	~24	[23]
With glass beads	1:7	Low temp. (0~4)	~24	[21]
With ion exchange resin	1:7	Low temp. (0~4)	~24	[22]
With ultrasound	1:7	Low temp. (5)	0.08~0.50	[23]
With negative pressure	1:7	Low temp. (5)	0.08~0.17	This study

도입한 분별침전의 경우 음압 -50, -100, -150, -200 mmHg에서 침전 5~10분 이내에 파클리탁셀 수율은 각각 73.2, 92.1, 94.0, 99.9%이었다. 음압이 증가할수록 파클리탁셀의 수율이 증가하였으며 모든 음압에서 동일 침전 시간에서 대조군에 비해 높은 수율을 보였다. 음압 -50 ~ -200 mmHg에서 분별침전에 소요되는 시간은 5~10분으로 대조군 대비 96~192배 이상 감소하였다. 즉, 음압 도입으로 분별침전에 소요되는 시간을 획기적으로 단축할 수 있었다. 음압에 따른 침전물의 파클리탁셀 순도는 44~53% 정도로 순도 차이는 유의하지 않았다(data not shown). 이는 기존의 아세톤-펜테인 초음파 분별침전 연구 결과와도 유사하였다[23]. 다른 침전 용매(메탄올-물)를 이용한 음압 분별침전 결과와 비교하면, 침전 시간과 수율은 유사하였으나 침전물의 파클리탁셀 순도는 7.3~155.9% 향상되었다(메탄올-물 분별침전: 파클리탁셀 순도: 34~41%) [30]. 이러한 결과는 침전 용매 차이에 따른 불순물 제거 양상이 달라지기 때문으로 판단된다. 즉, 아세톤-펜테인 분별침전의 경우 메탄올-물 분별침전에서 보다 상대적으로 비극성 불순물이 더 효과적으로 제거된다. 아세톤-펜테인 분별침전에 대한 기존 연구와 본 연구의 결과를 비교하여 Table 1에 나타내었다. 침전 용액에 표면적증가물질(e.g. glass bead, ion exchange resin etc.) 첨가 유무에 관계없이 침전 시간은 대략 24시간 정도 소요되어 표면적증가물질 첨가에 의한 침전 시간 단축 효과는 거의 없었다[21-23]. 분별침전에 초음파를 도입한 경우 침전시간은 0.08~0.50 시간이었다[23]. 본 연구에서 분별침전에 음압을 도입한 경우 침전시간은 0.08~0.17 시간이었으며, 이는 초음파 도입 분별침전에서 침전시간과 유사하거나 조금 더 단축되었다. 결국 분별침전에 음압 도입으로 전통적 분별침전에서의 긴 침전 시간 문제를 획기적으로 개선할 수 있었는데, 이는 초음파 분별침전에서의 마찬가지로 음압 캐비테이션 버블 자체가 핵 생성 위치로 작용하여 핵 생성을 위한 자유 에너지 장벽을 낮추고[13], 또한 캐비테이션 버블 붕괴에 의한 효과(hotspot, shock waves, and microjets)로 물질 전달이 촉진되기 때문으로 판단된다[13,27,31].

### 3-2. 동역학적 해석

실험데이터(Fig. 1, Fig. 2)를 JMAK 식에 적용하여 침전 시간에 따른 파클리탁셀의 침전 양상을 동역학적으로 해석하였다. JMAK 식을 분별침전에 적용하기 위해 식 (2)를 기반으로  $\left(\ln\left(\frac{1}{1-X}\right)\right)$  대  $\log t$ 를 도식화 하였다(data not shown). 직선의 기울기와 절편으로

부터 계산된 Avrami 지수(n)와 속도 상수(k)를 결정 계수( $r^2$ )와 함께 Table 2에 나타내었다. n 값은 0.163 (대조군), 0.042~0.130 (-50 ~ -200 mmHg)이었다. n 값은 음압 유무에 따른 유의미한 차이는 없었다. 속도 상수( $\text{min}^{-1}$ )는 0.619 (control), 0.936~3.140 (-50 ~ -200 mmHg)이었다. 대조군 대비 음압(-50 ~ -200 mmHg)을 이용한 분별침전의 경우, 속도 상수는 1.512~5.073배 증가하였다. 또한 속도 상수는 초음파 캐비테이션 분별침전( $1.534\sim2.419 \text{ min}^{-1}$ , 초음파 파워 80~250 W)에서 보다 음압 캐비테이션 분별침전에서 더 큰 값을 보였다[23]. Arrhenius 식[28]을 이용하여 음압(-50~-200 mmHg)에 따른 활성화에너지 변화량( $\Delta E_a = \Delta E_{a, \text{negative pressure}} - \Delta E_{a, \text{control}}$ )을 계산한 결과,  $\Delta E_a$  값은 각각 -3,737 J/mol (-50 mmHg), -6,138 J/mol (-100 mmHg), -6,133 J/mol (-150 mmHg), -6,536 J/mol (-200 mmHg)이었다. 분별침전에 음압을 도입할 경우 활성화에너지 감소 효과가 있었으며, 이는 초음파를 도입한 아세톤-펜테인 분별침전 결과(-4,876~-5,930 J/mol, 초음파 파워 80~250 W) [23], 음압 캐비테이션 메탄올-물 분별침전 결과(-1,767~-4,161 J/mol, 음압 -50~-200 mmHg) [30]와 유사한 경향을 보였다. 결국 분별침전에 음압을 도입함으로써 활성화에너지를 감소시킬 수 있으며, 이로 인해 침전 속도를 증가시킬 수 있었다. 동역학적 해석 결과, JMAK 모델이 높은  $r^2$ 값(>0.8992)을 가져 파클리탁셀 분별침전 공정에 적합함을 알 수 있었다.

### 3-3. 확산계수 계산

침전 특성을 정량적으로 조사하기 위하여, 대조군과 음압 캐비테이션 분별침전에서 침전물의 입자크기, 침전용액의 점도, 파클리탁셀의 확산계수를 측정하여 Table 3에 정리하였다. 대조군과 음압 캐비테이션 분별침전 용액의 점도는 각각 1.2와 0.9 g/cm·s로 측정되었다. 대조군에서 평균 입자크기는 49.925  $\mu\text{m}$ 로 측정되었다. 반면 음압 캐비테이션 분별침전에서 침전 5~10 min에서 평균 입자크기는 9.473  $\mu\text{m}$ 이었다. 침전물의 평균입자 크기는 대조군에서 보다 음압 캐비테이션 분별침전에서 5.3배 더 감소하였는데, 이러한 원료의약품의 입자크기 감소는 제형 시 용해 속도, 약물 분산 균일성, 생체 이용률 등을 향상시키는 장점을 가진다[32]. 분별침전 방법별 확산 양상을 조사하기 위하여, Stokes-Einstein 식을 이용하여 파클리탁셀의 확산계수  $D_{AB}$  (diffusion coefficient)을 계산하였다(Table 3). 대조군의 경우  $D_{AB}$  값은  $6.798 \times 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ 이었다. 반면 음압

**Table 2. The values of kinetic parameter for the acetone-pentane fractional precipitation of paclitaxel at different negative pressures**

Negative pressure (mmHg)	n (-)	k ( $\text{min}^{-1}$ )	$r^2$ (-)	$\Delta E_a$ (J/mol) ( $E_{a, \text{negative pressure}} - E_{a, \text{control}}$ )
Control	0.353	0.186	0.9246	-
-50	0.130	0.936	0.8992	-3737
-100	0.045	2.644	0.9999	-6138
-150	0.116	2.638	0.9999	-6133
-200	0.042	3.140	0.9999	-6536

**Table 3. Effect of negative pressure cavitation bubbles on mean particle size, viscosity, and diffusivity**

Fractional precipitation type	Mean particle size ( $\mu\text{m}$ )	Viscosity ( $\text{g}/\text{cm}\cdot\text{s}$ )	Diffusion coefficient, $D_{AB}$ ( $\times 10^{15} \text{ m}^2/\text{s}$ )
Control*	49.925	1.2	6.798
With negative pressure cavitation bubbles (-200 mmHg)	9.473	0.9	47.795

\*Without negative pressure (atmospheric pressure, 760 mmHg)

캐비테이션 분별침전의 경우,  $D_{AB}$  값은  $47.795 \times 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$  이었다. 음압 도입으로 확산계수  $D_{AB}$  값이 대조군 대비 7.0배 증가하였다.  $D_{AB}$  값은 초음파 캐비테이션 분별침전( $36.897 \times 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ , 초음파 파워 250 W)에서 보다 음압 캐비테이션 분별침전(-200 mmHg)에서 1.3배 더 컸다[23]. 또한 음압 캐비테이션 메탄올-물 분별침전( $28.532 \times 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$ )보다 1.7배 큰 값을 보였다[30]. 분별침전에서 확산계수의 증가는 균질 핵 생성에 중요하게 영향을 미친다[27,33,34]. 이러한 확산계수의 증가는 음압 캐비테이션 버블 붕괴에 의한 효과 때문으로 판단된다[13,27,35].

#### 4. 결 론

본 연구에서는 음압 캐비테이션 아세톤-펜테인 분별침전으로 정제 효율을 획기적으로 개선하였다. 음압이 없는 분별침전(대조군)에서 파클리탁셀 수율 91.1%에 도달하는데 긴 침전 시간(16 시간)이 소요되는 반면 음압 캐비테이션 분별침전(-50~-200 mmHg)에서 파클리탁셀 수율은 짧은 조업 시간(5~10분)에 73.2~99.9%이었다. 특히, 음압 -200 mmHg에서 분별침전할 경우 침전 시간 5분 이하에서 대부분의 파클리탁셀을 회수(>99.9%)할 수 있었다. 실험 데이터를 JMAK식에 적용하여 동역학적 해석을 수행한 결과, 대조군 대비 음압 -50~-200 mmHg에서 침전 속도 상수  $k$  값은 1.512~5.073배 증가하였다. 음압 캐비테이션 분별침전의 경우 대조군 대비 활성화 에너지 변화량은 -3737~-6536 J/mol (-50~-200 mmHg)이었다. 분별침전에 음압을 도입으로 활성화에너지를 감소시킬 수 있으며, 이로 인해 침전 속도를 증가시킬 수 있었다. 더 나아가 대조군에 비해 음압 캐비테이션 분별침전에서 침전물의 입자 크기는 5.3배 감소하였으며, 파클리탁셀의 확산 계수는 7.0배 증가하였다. 이러한 침전 효율의 향상은 음압 캐비테이션 버블 자체가 핵 생성 위치로 작용함과 동시에 캐비테이션 버블 붕괴에 의한 물질 전달의 용이성 때문으로 판단된다.

#### 감 사

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(Grant Number: 2021R1A2C1003186).

#### References

- Montero, P., Pérez-Leal, M., Pérez-Fidalgo, J. A., Sanz, C., Estornut, C., Roger, I., Milara, J., Cervantes, A. and Cortijo, J., "Paclitaxel Induces Epidermal Molecular Changes and Produces Subclinical Alterations in the Skin of Gynecological Cancer Patients," *Cancers*, **14**, 1146(2022).
- Zhu, L. and Chen, L., "Progress in Research on Paclitaxel and Tumor Immunotherapy," *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **24**, 40(2019).
- Caillaud, M., Patel, N. H., White, A., Wood, M., Contreras K.

- M., Toma, W., Alkhlaif, Y., Roberts, J. L., Tran, T. H., Jackson, A. B., Poklis, J., Gewirtz, D. A. and Damaj, M. I., "Targeting Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ) to Reduce Paclitaxel-induced Peripheral Neuropathy," *Brain. Behav. Immun.*, **93**, 172-185(2021).
- Bernabeu, E., Cagel, M., Lagomarsino, E., Moreton, M. and Chiappetta, D. A., "Paclitaxel: What has Been Done and the Challenges Remain Ahead," *Int. J. Pharm.*, **526**, 474-495(2017).
- Tan, L., Yang, L. L., Li, Y. J., Jiang, Z. F., Li, Q. Y., Ma, R. R., He, J. Y., Zhou, L. D., Zhang, Q. H. and Yuan, C. S., "Investigating two Distinct Dummy Templates Molecularly Imprinted Polymers as Paclitaxel Adsorbent in Synthesis System and Releaser in Biological Samples," *Microchem. J.*, **165**, 106042(2021).
- Jang, Y. S. and Kim, J. H., "Characteristics and Mechanism of Microwave-assisted Drying of Amorphous Paclitaxel for Removal of Residual Solvent," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **24**, 529-535(2019).
- Ghorbani, M., Pourjafar, F., Saffari, M. and Asgari, Y., "Paclitaxel Resistance Resulted in a Stem-like State in Triple-negative Breast Cancer: A Systems Biology Approach," *Meta Gene*, **26**, 100800(2020).
- Sun, T., Liu, Y., Li, M., Yu, H. and Piao, H., "Administration with Hyperoside Sensitizes Breast Cancer Cells to Paclitaxel by Blocking the TLR4 Signaling," *Mol. Cell. Probes*, **53**, 101602(2020).
- <https://www.360researchreports.com/global-paclitaxel-sales-market-16679274>.
- Modarresi-Darreh, B., Kamali, K., Kalantar, S. M., Dehghanizadeh, H. and Aflatoonian, B., "Comparison of Synthetic and Natural Taxol Extracted from Taxus Plant (*Taxus baccata*) on Growth of Ovarian Cancer Cells Under in vitro Condition," *Eurasia J. Biosci.*, **12**, 413-418(2018).
- Oguzkan, S. B., Karagul, B., Uzun, A., Guler, O. O. and Ugras, H. I., "Pre-purification of An Anticancer Drug (paclitaxel) Obtained from Nut Husks," *Int. J. Pharmacol.*, **14**, 76-82(2018).
- Ochoa-Villarreal, M., Howat, S., Hong, S., Jang, M. O., Jin, Y. W., Lee, E. K. and Loake, G. J., "Plant Cell Culture Strategies for the Production of Natural Products," *BMB Rep.*, **49**, 149-158(2016).
- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Cavitation Bubble- and Gas Bubble-induced Fractional Precipitation of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Process Biochem.*, **99**, 316-323(2020).
- Seo, H. W. and Kim, J. H., "Ultrasound-assisted Fractional Precipitation of Paclitaxel from *Taxus chinensis* Cell Cultures," *Process Biochem.*, **87**, 238-243(2019).
- Oh, S. R. and Kim, J. H., "Ultrasound-based Fractional Precipitation for the Purification of (+)-dihydromyricetin," *Korean J. Chem. Eng.*, **38**, 480-484(2021).
- Lee, C. G. and Kim, J. H., "A Kinetic and Thermodynamic Study of Fractional Precipitation of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Process Biochem.*, **59**, 216-222(2017).
- Kang, I. S. and Kim J. H., "Effect of Reactor Type on the Puri-

- fication Efficiency of Paclitaxel in the Increased Surface Area Fractional Precipitation Process,” *Sep. Purif. Technol.*, **99**, 14-19 (2012).
18. Kim, J. H., Kang, I. S., Choi, H. K., Hong, S. S. and Lee, H. S., “Fractional Precipitation for Paclitaxel Pre-purification from Plant Cell Cultures of *Taxus chinensis*,” *Biotechnol. Lett.*, **22**, 1753-1756(2000).
  19. Kim, J. H., Kang I. S., Choi, H. K., Hong, S. S. and Lee, H. S., “A Novel Prepurification for Paclitaxel from Plant Cell Cultures,” *Process Biochem.*, **37**, 679-682(2002).
  20. Jeon, S. I., Mun, S. and Kim, J. H., “Optimal Temperature Control in Fractional Precipitation for Paclitaxel Pre-purification,” *Process Biochem.*, **41**, 276-280(2006).
  21. 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).
  22. 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).
  23. Min, H. S. and Kim, J. H., “Kinetic and Thermodynamic Study of the Ultrasonic Acetone-pentane Fractional Precipitation of Paclitaxel from the Plant Cell Cultures of *Taxus chinensis*,” *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **26**, 660-668(2021).
  24. Schueller, B. S. and Yang, R. T., “Ultrasound Enhanced Adsorption and Desorption of Phenol on Activated Carbon and Polymeric Resin,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **40**, 4912-4918(2001).
  25. 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. Bioprocess Eng.*, **24**, 513-521(2019).
  26. 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).
  27. Dalvi, S. V. and Dave, R. N., “Analysis of Nucleation Kinetics of Poorly Water-soluble Drugs in Presence of Ultrasound and Hydroxypropyl Methyl Cellulose During Antisolvent Precipitation,” *Int. J. Pharm.*, **387**, 172-179(2010).
  28. 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).
  29. Yoo, K. W. and Kim, J. H., “Kinetics and Mechanism of Ultrasound-assisted Extraction of Paclitaxel from *Taxus chinensis*,” *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **23**, 532-540(2018).
  30. Min, H. S. and Kim, J. H., “Negative Pressure Cavitation Fractional Precipitation for the Purification of Paclitaxel from *Taxus chinensis*,” *Korean J. Chem. Eng.*, **39**, 58-62(2022).
  31. Dalvi, S. V. and Yadav, M. D., “Effect of Ultrasound and Stabilizers on Nucleation Kinetics of Curcumin During Liquid Antisolvent Precipitation,” *Ultrason. Sonochem.*, **24**, 114-122(2015).
  32. Khadka, P., Ro, J., Kim, H., Kim, I., Kim, J. T., Kim, H., Cho, J. M., Yun, G. and Lee, J., “Pharmaceutical Particle Technologies: An Approach to Improve Drug Solubility, Dissolution and Bioavailability,” *Asian J. Pharm. Sci.*, **9**, 304-316(2014).
  33. Ma, D., Marshall, J. S. and Wu, J., “Measurement of Ultrasound-enhanced Diffusion Coefficient of Nanoparticles in An Agarose Hydrogel,” *J. Acoust. Soc. Am.*, **114**, 3496-3502(2018).
  34. Guo, Z., Jones, A. G. and Li, N., “The Effect of Ultrasound on the Homogeneous Nucleation of BaSO<sub>4</sub> During Reactive Crystallization,” *Chem. Eng. Sci.*, **61**, 1617-1626(2008).
  35. Wolloch, L. and Kost, J., “The Importance of Microjet vs Shock Wave Formation in Sonophoresis,” *J. Control. Release*, **148**, 204-211(2010).

#### Authors

**Hye-Su Min:** Student, Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan 31080, Korea; hyesu77757@naver.com)

**Jin-Hyun Kim:** Professor, Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan 31080, Korea; jinhyun@kongju.ac.kr)