

보조용매가 포함된 초임계 이산화탄소와 흡착컬럼을 이용한 탁솔과 바카틴 III의 추출 및 정제에 관한 연구

조병관, 김공환, 김철, 변상요
아주대학교 공과대학 화학생물공학부

Studies on the Extraction and Purification of Taxol and Baccatin III by using Supercritical Carbon dioxide with various Cosolvents and Adsorptive trapping

Byung Gwan Cho, Kong Hwan Kim, Chul Kim, Sang Yo Byun
School of Chemical Engineering and Biotechnology, College of Engineering,
Ajou University, Suwon 442-749, Korea

서론

항암제 taxol(Fig. 1)은 1971년 Wani등에 의하여 태평양 주목의 추출물중 항암 물질의 본체로서 구조가 밝혀진 후 기존의 항암제들과는 다른 항암기작에 의하여 최근까지 각광받고 있는 항암물질이다. 하지만 잘 알려진 바와 같이 주목 수피에도 극히 소량 함유되어 있어 탁월한 항암효과를 이용하는데 어려움이 있어 온 것이 사실이다[1,2]. 또한, 현재까지 세포배양이나 합성등에 의한 방법으로 탁솔을 생산하려는 많은 시도들이 이루어져 왔지만 만족스럽지 못하였고 대부분이 기존의 용매추출과 크로마토그래피를 이용하여 주목나무에서 직접 공급되어 왔다[3]. 하지만 이러한 방법들은 인체에 유해한 용매가 다량 사용되고 에너지가 다량 소비되는 공정이 포함되는 등의 문제점들로 인해 taxol의 가격뿐만 아니라 환경에도 악영향을 끼치고 있다.

1995년에는 초임계 유체공정을 이용하여 taxol과 그 관련물질을 추출하면 19 단계에서 5단계로 공정수를 줄일수 있고 그 결과 생산비를 75%까지 절감할수 있다고 보고되고 있다[4]. 본 연구에서는 이와 같은 초임계유체의 유용성을 이해하고 초임계조건의 변화, 보조용매의 변화, 흡착컬럼등을 이용하여 taxol의 추출량과 선택성을 최대로 증가시키는 조건을 얻어 용매추출법과 비교함으로써 앞으로의 가능한 공정을 제시하고자 하였다.

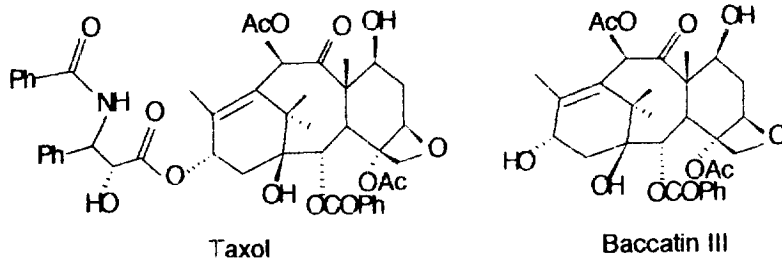


Fig. 1. Structure of Taxol and Baccatin III

실 험

1. 시료 및 시약

본 실험에 사용된 시료는 주목(*Taxus cuspidata*)의 껍질 부분으로서 음지에서 자연건조시킨후 미세분말로 입자화 시킨후에 각 실험당 10g씩 사용하였다. 추출 용매로 99.9%순도의 이산화탄소를 사용하였으며 보조용매를 비롯한 실험에 사용된 모든 유기용매는 BDH사의 HPLC용 특급시약을 사용하였다.

2. 초임계유체추출

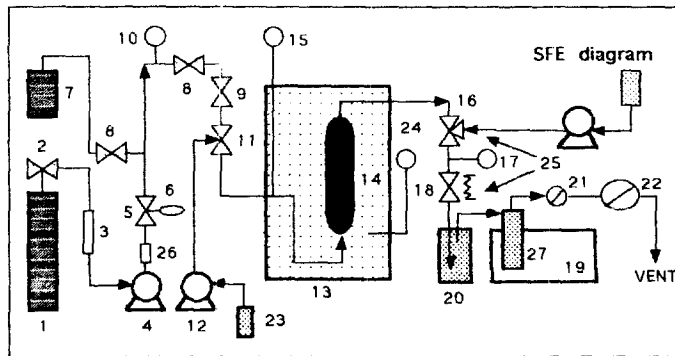
본 실험에 사용된 장치의 개략도는 Fig. 2와 같다. 반응기(MS-19, HiP Co. U.S.A.)내부는 유리구슬과 시료를 번갈아 충전하여 packed bed형태로 만들어 주었으며 1시간동안 1.6L/min의 유속(STD)으로 연속식추출을 진행하였고 흡착컬럼은 동일한 반응기에 전처리된 흡착물질을 충전한후 연결하여 사용하였다.

3. 유기용매추출

초임계추출의 선택성과 수득율을 알아보기위해 용매추출을 진행하였다. 시료 10g에 메탄을 100ml를 가하여 온도를 조절한 sonicator를 이용 4번추출한후 회석하여 분석을 진행하였고 별도의 정제과정은 거치지 않았다.

4. 분석방법

추출된 taxol의 정량적인 분석을 위해 HPLC(GBC Co. Australia)와 컬럼으로는 MetaChem Technologies(Torrance, CA, U.S.A.)로 부터 구입한 Taxil™(250mm, 5μ)을 이용하여 물과 아세토니트릴을 52:48(v/v)의 isocratic조건으로 30분간 0.8ml/min의 유속으로 유지하였다. 시료주입량은 20μl로 일정하게 유지했고 분석 파장은 228, 280nm를 이용하였다.



- | | | |
|----------------------------|---------------------|---------------------------|
| 1. CO2 cylinder | 10. Pressure gauge | 19. Low temp. circulator |
| 2. High pressure regulator | 11. 3way valve | 20. Collector |
| 3. Line filter | 12. Co-solvent pump | 21. Flow meter |
| 4. Compressor | 13. Oven | 22. Wet test meter |
| 5. 3way valve | 14. Extractor | 23. Co-solvent reservoir |
| 6. Rupture disk | 15. Pressure gauge | 24. Temperature gauge |
| 7. Reservoir | 16. 2way valve | 25. Heating belt & mantle |
| 8. 2way valve | 17. Pressure gauge | 26. Check valve |
| 9. Forward regulator | 18. Micro-valve | 27. 2nd collector |

Fig. 2. Schematic Flow Diagram of SFE system

결과 및 토론

별도의 정제과정없이 유기용매추출결과 본 실험에 사용된 시료의 taxol함량은 0.02%(w/w)정도였고 보조용매가 포함되지 않은 초임계조건에서 실험을 진행하였을때 taxol추출에 대한 압력 및 온도의 영향은 크지 않은 것으로 나타났지만 5500psig, 318K에서 비교적 최적조건임을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 5500psig이상에서 추출량이 감소한 이유는 초임계유체의 점도가 증가하므로써 확산계수의 감소를 가져와 결국 추출량이 감소했다고 생각할 수 있다. 하지만 변화폭이 작으므로 비극성 성질을 가진 초임계 이산화탄소만으로 압력과 온도의 변화를 이용해 taxol을 추출하는데는 한계가 있음을 나타낸다.

다양한 보조용매를 이용하여 추출영향을 살펴보았을때 메탄올이 가장 좋은 효과를 나타내었으며 최적압력, 온도 및 농도비는 각각 4000psig, 40°C, 7%(w/w)인 것으로 나타났다(Fig. 4(a)). 하지만 선택성면에서는 엽록소등의 성분들이 다량 추출되어 선택성에 좋지 않은 영향을 나타냈다. 따라서 선택성증가에 관한 연구가 필요하게 되었는데 보조용매중 비극성용매(polarity=0.0)들의 taxol추출에 대한 영향은 매우 낮은 것으로 나타나 전처리 개념으로 이들을 이용하게 되었다. 4000psig, 40°C에서 이들 비극성용매를 이용하여 1시간동안 추출한뒤 다시 메탄올을 보조용매로 사용하면 taxol추출량의 손실을 최소화하면서 기존의 선택성분제를 일부 해결할수 있었다(Fig. 4(b)).

위와 같은 방법으로 taxol을 추출하면 전체추출량은 상당히 증가시킬수가 있었으나 선택성면에서는 바람직하지 못한 결과를 가져왔다. 따라서 장치 후반부에 흡착물질로 충전된 컬럼을 추가하므로써 선택적으로 taxol관련물질만을 trapping하고자 하였다. 흡착물질은 기존의 크로마토그래피에서 자주 이용되어온 silica gel, XAD-7, alumina를 이용하였으며 이중 흡착능력은 XAD-7이 가장 뛰어났으나 흡착능력은 약간 뒤지지만 경제성면에서 silica gel을 이용하여 최적화실험을 진행하였다. 실험결과 약 11g(시료와의 비율 1:1)정도면 추출된 taxol의 손실이 최소화되며 흡착후 elution과정에서의 손실도 가장 적었다. 특이한 것은 baccatin III의 경우는 흡착이 거의 되지 않고 collector부분에 거의 전량 존재하므로써 선택성을 증가시키는 결과를 가져왔다. Taxol선택성은 비극성용매로 전처리하였을때 보다 2배, 메탄올을 보조용매로 이용하였을때 보다 약 10배 증가되었다. 따라서 위와 같은 실험결과로 볼때 비극성 보조용매로 전처리하고 메탄올 보조용매를 이용하여 추출, 흡착시켜 일부 정제된 taxol을 얻은 뒤 고순도 정제과정을 거친다면 5-6단계로 기존 공정을 단축시킬 수 있을 것으로 기대된다(Fig. 4(c)(d)).

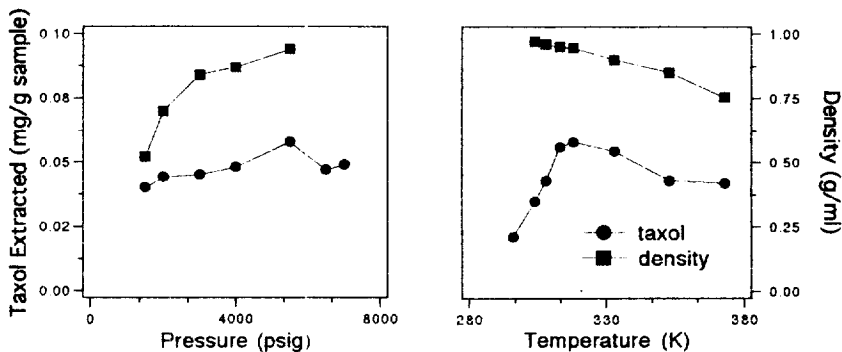


Fig. 3. Effect of Pressure and Temperature on Taxol Extraction

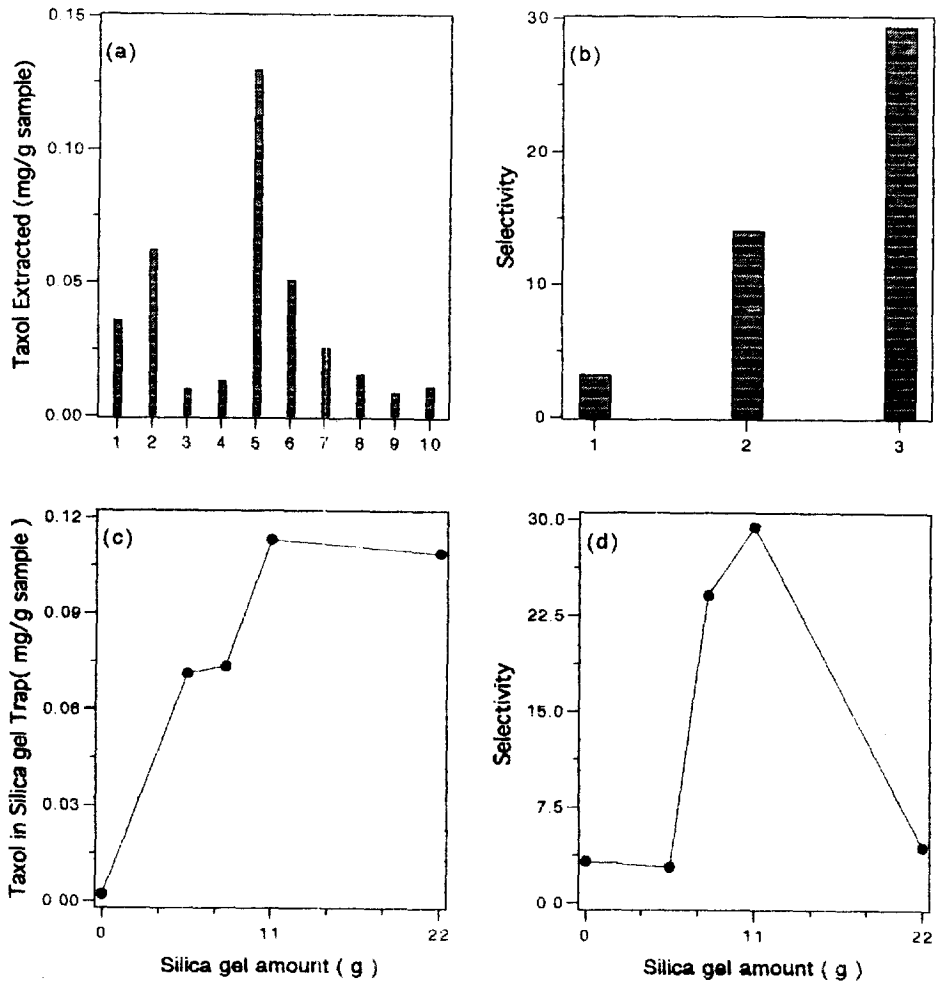


Fig. 4. Effect of Various Cosolvents(a) - 1:Acetonitrile, 2:Dichloromethane, 3:Acetone, 4:Chloroform, 5:Methanol, 6:Ethanol, 7:Trichloroethylene, 8:Heptane, 9:n-hexane 10:Pentane - , Multistep process(b) - 1:Methanol, 2:Pretreatment with nonpolar cosolvents, 3:Adsorptive trapping - , and Adsorptive Trapping(c)(d) on Taxol Extraction and Selectivity

참고문헌

1. M.C.Wani, H.L.Taylor, M.E.Wall, P.Coggen, and A.T.McPhail(1971), *J. Amer.Chem. Soc.*, 93, 2325.
2. N. Vidensek, P. Lim, A. Campbell, and C. Carlson(1990), *J. Nat. Prod.*, 53, 1609.
3. Gordon M. Saul A. Schepartz, Matthew Suffness, and Michael R. Grever(1993), *J. Nat. Prod.*, 56, 1657.
4. Genetic Engineering News,"Manufacturer of Taxol Chooses Michigan for Production Site", March 15, 1995.
5. David W. Jennings, Howard M. Deutsch, Leon H. Zalkow, and Amyn S. Teja(1992), *J. Supercritical Fluids*, 5, 1.