

Candida Rugosa Lipase에 의한 Ibuprofen 에스테르화 반응과 광학분할

홍 중 기 · *김 광 제 · 소 원 옥 · 문 상 진 · ¹이 용 택
한국화학연구원, ¹충남대학교
(접수 : 2002. 11. 15., 게재승인 : 2002. 12. 26.)

Optical Resolution of Racemic Ibuprofen by *Candida Rugosa* Lipase Catalyzed esterification

Jung-Ki Hong, Kwang-Je Kim*, Won-Wook So, Sang-Jin Moon, and Yong-Taek Lee¹
Advanced Chemical Technology Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600 Korea
¹Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764 Korea
(Received : 2002. 11. 15., Accepted : 2002. 12. 26.)

The enantioselective esterification of racemic ibuprofen catalyzed by a *Candida rugosa* lipase was studied according to reaction conditions such as a lipase concentration, reaction temperature, alcohol chain length and alcohol concentration. The S-(+)-ibuprofen alkyl esters prepared were converted to S-(+)-ibuprofen by hydrolysis with sulfuric acid as a catalyst. High conversions in the esterifications were obtained at 60°C and an equimolar ratio of octanol to ibuprofen. The initial reaction rate of the esterification decreased with increasing octanol concentration. Conversion and initial reaction rate increased with increasing alcohol chain length. Values of enantiomeric excess(ee) according to esterification reaction conditions did not change below 60°C. On the other hand, values of conversion and ee for the chemical hydrolysis of S-(+)-ibuprofen alkyl esters were independent of alcohol alkyl chain length. Optical resolution of racemic ibuprofen was achieved by lipase catalyzed esterification and chemical hydrolysis. The separation method provided a high yield and enantioselectivity for the production of S-(+)-ibuprofen from racemic ibuprofen.

Key Words : Ibuprofen, lipase, optical resolution, esterification, hydrolysis

서 론

최근에 광학순도의 중요성에 대한 인식이 높아지고 관계 당국(식품 의약 안전청, FDA)의 규제에 따라 광학 이성질체 혼합물인 라세미 화합물(racemate)로부터 순수한 enantiomer의 분리에 대한 관심이 증가하고 있다. 키랄 의약품의 두 이성질체는 생체 내에서 각기 다른 작용을 하게 되어, 한 이성질체는 약리 활성을 띠는 반면, 다른 이성질체는 전혀 활성이 없거나 오히려 독성을 나타낼 수 있다. 그러므로 의약품 생산에 있어서 chirotechnology를 적용하여 원하는 성질의 물질만을 순수하게 얻는 것이 중요하다.

Ibuprofen(2-(4-isobutylphenyl) propionic acid)는 2-arylpropionic acid 유도체 군에 속하고 비스테로이드계 소염진통제로 널리 사용되는 물질이며, 두 번째 위치에 키랄 센터(chiral center)가 있는 광학 이성질체이다. Ibuprofen의 경우 S-(+)-enantiomer

가 R(-)-enantiomer 보다 160배의 활성이 있다고 알려져 있다(1). 따라서 약효 활성이 높은, 즉 순수한 enantiomer 의약품 확보에 대한 관심이 고조되고 있다.

효소를 이용한 광학분할은(2-4) 반응 조건이 온화하고, 환경 친화적이며 에너지 소비가 적은 장점을 갖고 있다. 특히 지질 분해 효소인 lipase는 기질 특이성과 입체선택성이 우수하여 이성질체 분리에 많이 사용된다. 또한 이 효소는 비극성 용매에 안정하고, 다양한 크기와 입체화학적 특성을 갖는 적합한 기질로 전환시키는 능력을 갖고 있다. Lipase는 화학적으로 제조된 라세미 에스테르의 입체 선택적 가수분해 반응(5)이나 유기 용매상에서 입체 선택적 에스테르화 반응(6)에 사용되었다. Lipase 촉매를 이용한 유기 용매상에서의 에스테르화 반응이 물 속에서의 일어나는 가수분해 반응에 비해 훨씬 더 입체 선택적이다(7). *Candida rugosa* lipase는 S-(+)-ibuprofen에 대해 선택적으로 촉매 작용을 하며 *Candida antarctica* lipase는 R(-)-ibuprofen에 대해 선택적으로 촉매 작용을 한다. Racemic ibuprofen으로부터 순수한 S-(+)-ibuprofen을 얻는 이상적인 방법은 *Candida antarctica* lipase를 이용하여 R(-)-ibuprofen만을 전부 에스테르화 시키고 반응하지 않은 S-(+)-ibuprofen을 회수하는 것이다. 그러나 *Candida*

* Corresponding Author : Korea Research Institute of Chemical Technology, Yusong P.O. Box 107, Daejeon 305-600 Korea.
Tel : +82-42-860-7536, Fax : +82-42-860-7590
E-mail : kjkim@kriict.re.kr

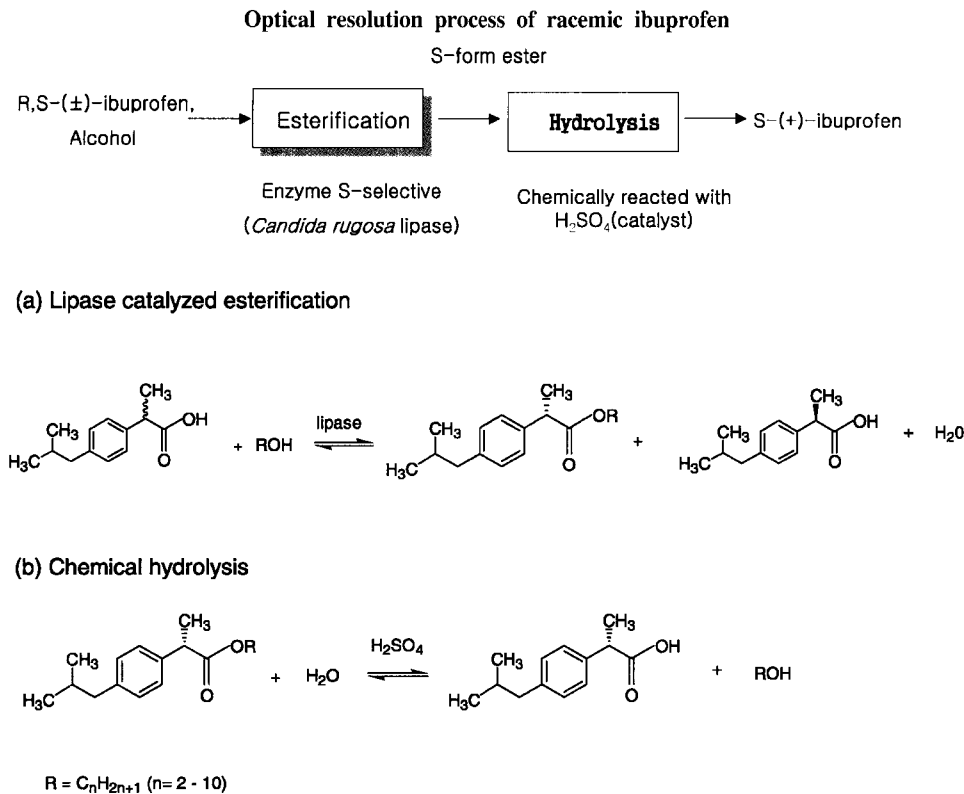


Figure 1. Enantioselective esterification of S,R-(±)-ibuprofen catalyzed by lipase and chemical hydrolysis of S-ibuprofen alkyl ester catalyzed by sulfuric acid.

antartica lipase는 ibuprofen 에스테르화 반응에 있어서 낮은 입체선택성으로 인하여 enantiomeric excess 또는 수율이 저하된다(8). 반면에, *Candida rugosa* lipase는 우수한 입체선택성 때문에 높은 전환율과 enantiomeric excess을 얻을 수 있다(6). 따라서 효소 촉매에 의한 ibuprofen 이성질체의 광학분할은 *Candida rugosa* lipase를 사용하여 racemic ibuprofen (R, S-(±)-ibuprofen)을 에스테르화 반응시키는 것이 효과적인 이성질체의 분리 방법이 될 수 있다. 여기서 제조되는 S-(+)-ibuprofen alkyl ester는 화학적 가수분해 반응에 의해 순수한 S-(+)-ibuprofen으로 전환된다. 에스테르화 반응의 조건과 효소 기질의 특이성 작용에 의하여 수율과 enantiomeric excess 등에 큰 영향을 미칠 수 있다. 특히 적절한 알코올 기질의 선택과 알코올 농도의 선정 등이 중요하다(9).

본 연구에서는 *Candida rugosa* lipase를 이용한 ibuprofen 에스테르화 반응에 의해 S-form ester를 합성하였으며, 제조된 에스테르는 다시 화학적 가수분해 반응을 통해 순수한 S-(+)-ibuprofen으로 전환하였다. 효과적인 ibuprofen 이성질체의 분리 방법을 확립하기 위하여 주로 핵심 반응인 에스테르화 반응조건의 변수 즉 효소농도, 반응온도, 알코올 농도, 알코올 종류 등에 대하여 전환율 및 초기반응속도, enantiomeric excess, 총괄 수율 등을 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

Racemic ibuprofen은 한울 제약(주)으로부터 제공받았으며

효소 촉매인 *Candida rugosa* lipase는 Sigma사의 제품(Type VII, L-1754)이었다. Lipase의 지지체로 fuller's earth (Celite[®] 545)를 사용하였는데 효소와 Celite 무게 비율은 1:1이었다. 에스테르화 반응의 용매로는 isooctane(Aldrich)을 사용하였다. 에스테르화 반응에 사용된 알코올 종류로는 ethanol(anhydrous), 1-butanol, 1-hexanol, 1-octanol, 1-decanol 등을 사용하였으며 이들 모두 Aldrich로부터 공급받았다. 한편 가수분해 반응에 사용된 시약은 황산, 중탄산나트륨(NaHCO₃), dimethyl sulfoxide (DMSO), hexane 등으로 Junsei Chem.(일본) 제품이였다. 여기서 황산은 반응의 촉매로, 중탄산나트륨 수용액은 미반응물인 R(-)-ibuprofen의 추출제로, DMSO는 가수분해 반응의 용매로, hexane은 최종 제품인 S-(+)-ibuprofen을 회수하는 추출제로 사용되었다.

실험방법

R, S-(±)-ibuprofen의 에스테르화와 S-(+)-ibuprofen alkyl ester의 가수분해 반응식은 Figure 1과 같다. 생체촉매인 *Candida rugosa* lipase에 의한 에스테르화 반응을 100 mL round flask에서 수행하였다. 알코올 농도의 변수를 제외하고 isooctane에 racemic ibuprofen(62.5 mM)/alcohol의 몰비를 1/2로 넣고 효소와 Celite, 그리고 소량의 물을 첨가하여 교반하였다. 효소 촉매의 활성화를 돕기 위하여 물을 사용하였는데 효소 양의 10%(무게%)이었다. 반응 변수로서 반응온도는 30~80℃ 범위 내에서 조절하였고, 효소의 농도는 0.0313~0.125×10³ g/L의 범위 내에서 변화시켰다. 알코올 농도의 효과는 octanol 농도를 18~250 mM 범위 내에서 변화시켰으며,

알코올 종류로는 탄소수가 2개인 ethanol에서 탄소수가 10개인 1-decanol까지 사용하였다.

에스테르화 반응물은 lipase 촉매에 의해 생성된 S-(+)-ibuprofen alkyl ester와 미반응된 R-(-)-ibuprofen을 포함하고 있다. 에스테르화 반응물은 1N NaHCO₃ 알칼리 수용액으로 2~3회 추출하여 R-(-)-ibuprofen을 완전히 분리·제거하였다. Isooctane층을 회수하여 40℃에서 감압증류한 후에 무색 액상의 S-(+)-ibuprofen alkyl ester를 얻었다. 회수된 S-(+)-ibuprofen alkyl ester은 황산 촉매를 이용한 화학적인 가수분해 반응에 의해 S-(+)-ibuprofen으로 전환되었다. S-(+)-ibuprofen alkyl ester 12 mM과 0.94M H₂SO₄ (2ml)를 친수성 용매인 DMSO 5 ml에 넣은 후 100℃에서 7시간 동안 교반하였다. 반응이 완료된 후 1 N NaHCO₃ 수용액과 hexane으로 S-(+)-ibuprofen을 추출하였다. 증발공정을 통해 hexane층에 용해되어 있는 S-(+)-ibuprofen을 회수하였다.

분 석

반응 중간체 및 생성물은 chiral column(모델명 Whelk-01, Regis Technologies Inc.)이 장착된 HPLC(모델명 486-600, Waters사)로 분석하였다. 이동상 용매의 조성의 비율은 n-Hexane : 2-Propanol : Acetic acid = 98 : 2 : 0.5 (vol%), 유속은 0.9 mL/min, UV detector의 wavelength는 254 nm이었다. 키랄 화합물의 광학이성질체 선택성을 나타내는 척도로 enantiomeric excess(ee)값을 다음 (1)식과 같이 정의하여 사용하였다.

$$ee (%) = \frac{(S) - (R)}{(S) + (R)} \times 100 \quad (1)$$

(S)와 (R)은 S-isomer와 R-isomer 각각의 농도를 나타낸다.

결과 및 고찰

에스테르화 반응에 대한 lipase 농도의 영향

Figure 2에 lipase 농도변화에 대한 에스테르화 반응의 전환율과 enantiomeric excess(ee)의 영향을 나타내었다. Lipase의 농도가 증가함에 따라 전환율은 증가하였고, 효소 농도가 높은 경우 즉 125 g/L 이상에서는 반응시간 24만에 거의 평형에 도달함을 알 수 있었다. 그러나 ee 값은 반응이 진행되는 동안 효소 농도에 관계없이 95% 이상으로 거의 일정하게 유지되었다. 반응시간이 48시간 이상 장시간 유지되면 입체선택성 즉 ee 값이 다소 떨어지는 경향이 있다고 하더라도 반응의 초기에는 효소 촉매 농도의 영향을 거의 받지 않았다. Lipase 촉매의 활성을 촉진시키기 위해서는 소량의 물이 필요하다. 여기서 물은 효소 분자 형상의 유연성을 부여하고 입체/광학 선택성을 상당히 높여 준다(10). 그러나 과량의 물은 에스테르화 반응의 가역반응으로 인해 반응에 불리하게 작용되어 전환율을 감소시킬 수 있다. 한편 물이 과부족하거나 없는 경우는 효소간의 응집이 유도되고 효소 입자간의 분산이 잘 일어나지 않아 반응속도를 떨어뜨린다고 알려져 있다(11). Mustranta(6)와 Kim(10)의 연구 결과에 따르면 효소 대비 10%의 물을 첨가하는 경우가 에스테르의 수율이 가장 높은 것으로 나타났다. Figure 2의 Ibuprofen과 octanol의 에

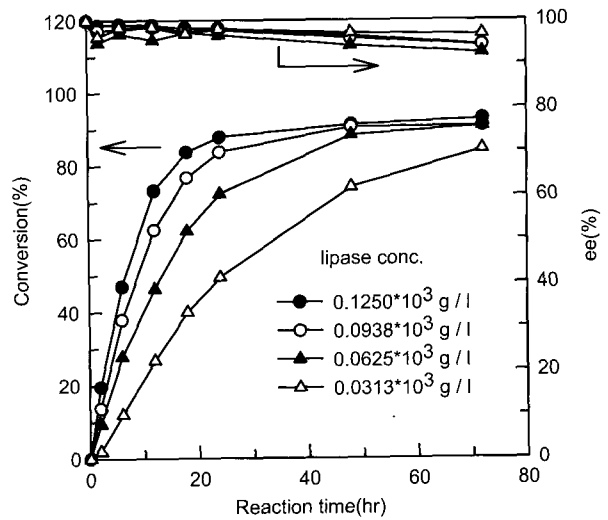


Figure 2. Esterification of ibuprofen and octanol with different lipase concentration. Ibuprofen conc.: 62.5 mM; octanol conc.: 125 mM; reaction temp.: 40℃.

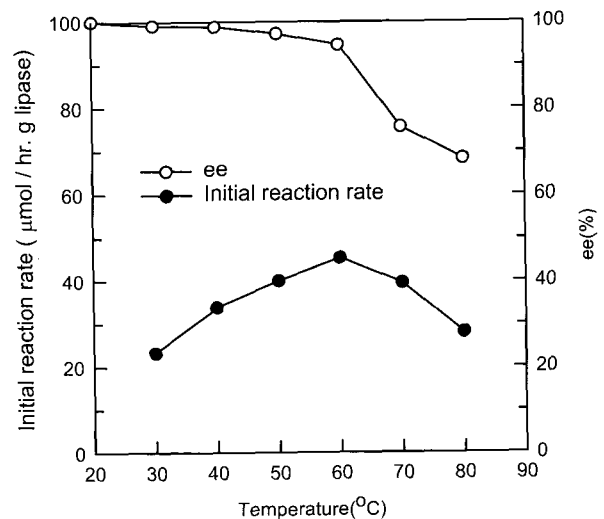


Figure 3. Effect of temperature on the initial reaction rate and enantiomeric excess of ibuprofen esterification. Ibuprofen conc.: 62.5 mM; octanol conc.: 125 mM; lipase conc.: 0.0625×10³g/L; reaction time: 24 hr.

스테르화 반응에서도 lipase 농도별로 각각에 대해서 효소 대비 10%의 물을 첨가하여 반응한 결과 반응 초기의 전환율의 변화 즉 초기반응속도가 일정하게 증가하여 물의 효소촉매 작용 효과가 일관성 있게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 물이 효소 촉매 반응에서 중요한 역할을 수행한다는 것을 뒷받침한다.

에스테르화 반응에 대한 반응온도의 영향

Figure 3은 반응온도에 따른 에스테르화 반응의 결과를 보여준다. 초기 반응속도는 반응 초기에 반응시간에 따른 전환율의 변화를 나타낸 것으로서 회귀법(regression method)으로 3차식을 얻은 후 이 식들을 미분하여 계산하였다. Enantiomeric excess(ee) 값은 반응시간 24시간 내에서 샘플링하여 분석한 것이다. 반응온도가 증가함에 따라 초기 반응속도가 증가하

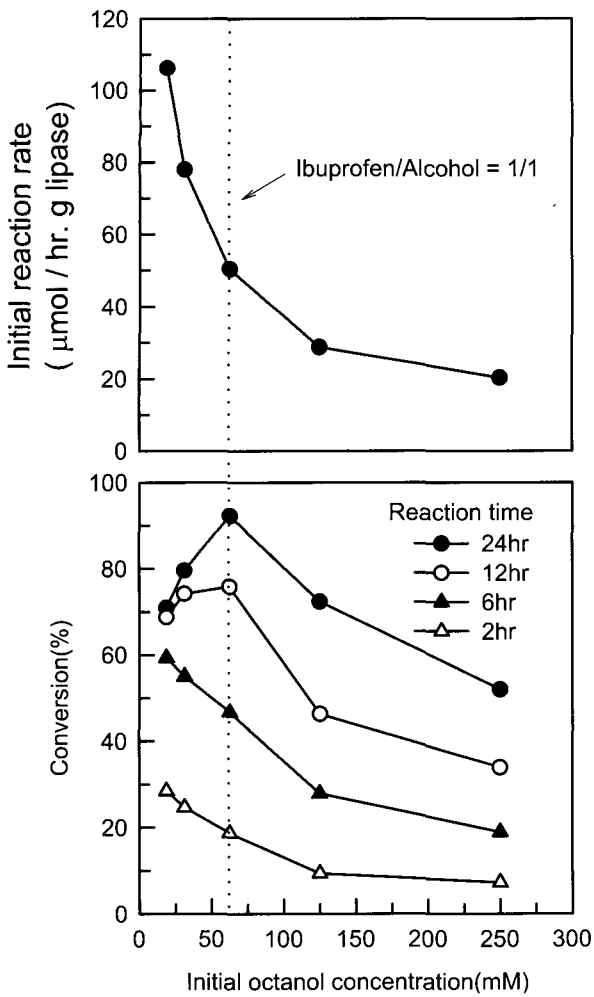


Figure 4. Effect of initial octanol concentration on the esterification of ibuprofen. Ibuprofen conc.: 62.5 mM; lipase conc.: 0.0625×10^3 g/L; reaction temp.: 40°C.

다가 반응온도 60°C에서 초기반응속도가 최고 값을 기록한 후 그 이상의 온도에서 감소하였다. 이것은 *Candida rugosa* lipase의 경우 60°C 이상의 온도에서는 안정하지 못함을 의미한다. 한편 ee 값도 60°C 이상에서는 급격하게 감소하여 80°C에서 초기 값과 30% 이상의 차이를 나타내었다. 반응온도 60°C까지는 ee값이 서서히 감소하다가, 그 이상의 반응온도에서는 현격하게 떨어졌다. 즉 반응온도가 너무 높아지면 효소 촉매의 활성 및 입체 선택성이 저하되어 S-(+)-ibuprofen octyl ester의 선택적 생성이 줄어들고 R-(-)-ibuprofen octyl ester가 상대적으로 많이 생성되었다는 것을 가리킨다. 이와 같은 사실은 반응온도가 높아지면 ibuprofen의 라세미화(racemization)가 촉진된다는 문헌의 결과(12)에 의해 뒷받침된다.

에스테르화 반응에 대한 알코올 농도 영향

초기 알코올 농도 효과를 조사하기 위하여 ibuprofen 농도 (62.5 mM)를 고정하고 옥탄올 농도(18~250 mM)에 따른 반응전환율과 초기 반응속도의 결과를 Figure 4에 나타낸다. 반응시간 6시간 이하에서는 초기 옥탄올 농도가 증가함에 따라 전환율이 일정하게 감소하는 경향을 보였으며, 12시간 이상

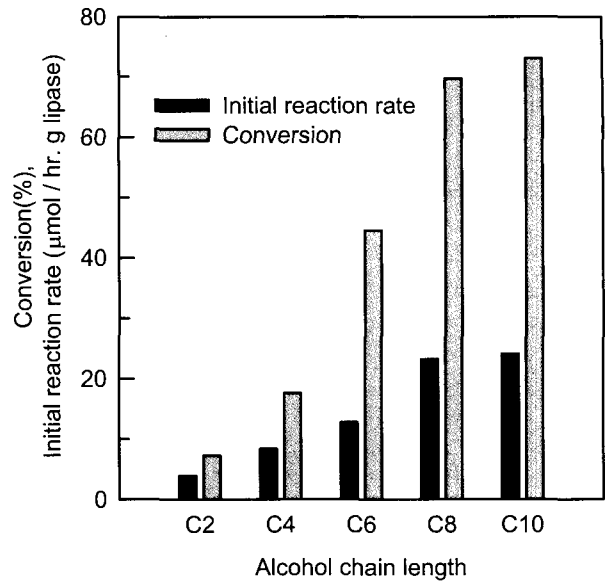


Figure 5. Effect of alcohol chain length on the esterification of ibuprofen. Ibuprofen conc.: 62.5 mM; octanol conc.: 125 mM; lipase conc.: 0.0625×10^3 g/L; reaction temp.: 30°C; reaction time: 24 hr. Abbreviations : C2, ethanol; C4, 1-butanol; C6, 1-hexanol; C8, 1-octanol; C10, 1-decanol.

의 경우에는 알코올 농도가 증가함에 따라 전환율이 ibuprofen/옥탄올의 몰 비가 1/1일때까지 증가하다가 그 이후부터는 감소하였다. 옥탄올 농도가 증가할수록 초기반응속도 값은 감소하는 경향, 즉 반비례 현상을 나타내었다. 이와 같은 초기 반응속도의 감소 경향은 알코올의 효소 촉매 저해제(enzyme inhibitor) 작용으로 볼 수 있다. 문헌에서도 ibuprofen 에스테르화 반응에 대한 알코올의 저해제 역할이 보고되어 있다(13). Ibuprofen과 옥탄올의 몰 비가 1/1 이하에서 최종 전환율(반응시간 24시간)이 점점 낮아지는 것은 반응하는 알코올 양이 적어 상대적으로 S-(+)-ibuprofen octyl ester의 생성이 줄어들었기 때문이다. Ibuprofen/옥탄올의 몰비 1/1에서 최종 전환율이 92.2%로서 가장 높게 나타났는데 이것은 비교적 알코올의 효소 촉매 저해제 작용을 덜 받는 조건에서 양론적인 화학반응이 이루어졌기 때문이다.

에스테르화 반응에 대한 알코올 종류 영향

Figure 5은 알코올 종류를 변화시켜 얻은 전환율 및 초기 반응속도를 보여준다. 알코올의 탄소수가 가장 낮은 ethanol (C₂)에서 가장 높은 1-decanol(C₁₀)로 증가할수록 초기 반응속도는 증가하였다. 이것은 알코올 체인의 길이가 효소 촉매 반응성에 큰 영향을 미치는 것으로 볼 수 있다. Mustranta (6)의 결과에 따르면 lipase에 의한 racemic ibuprofen과 알코올의 에스테르화 반응에서 물과 잘 섞이지 않는 1-butanol, amyl alcohol의 초기 반응속도는 메탄올, 에탄올과 비교하여 2배 이상 높았다.

사용된 알코올은 친수성과 소수성으로 구분할 수 있다. Table 1에서 보는 바와 같이 에탄올은 물과 아주 잘 섞이는 친수성이며 부탄올과 헥산올, 그리고 옥탄올은 물과 부분적으로 섞인다. 데칸올은 물과 전혀 섞이지 않는 소수성이다. 앞에서 언급한 바와 같이 물은 효소의 촉매 작용에 있어서 중요한

Table 1. Solubility of alcohol in water (15)

Alcohol	Empirical formula	Solubility in 100 parts water
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	miscible
1-Butanol	C ₄ H ₉ OH	7.4
1-Hexanol	C ₆ H ₁₃ OH	8.0
1-Octanol	C ₈ H ₁₇ OH	0.06
1-Decanol	C ₁₀ H ₂₁ OH	insoluble

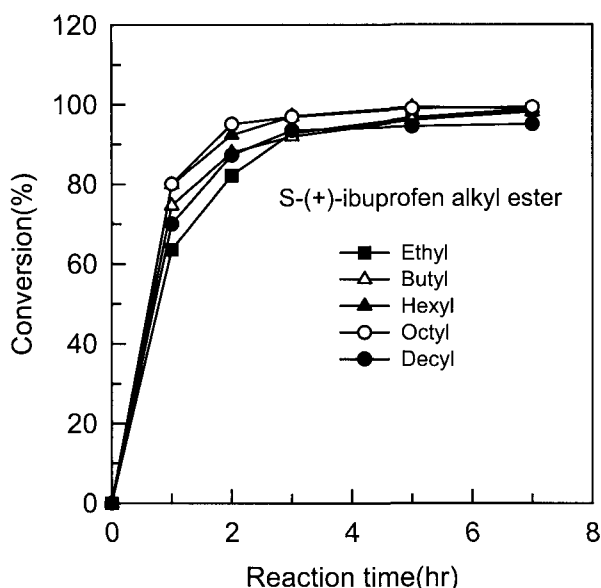


Figure 6. Chemical hydrolysis of ibuprofen alkyl ester with different alcohol chain length.

역할을 한다. Figure 5의 결과에서 물과 잘 혼합하는 에탄올은 초기 반응속도가 제일 낮다. 효소와 에탄올의 친화력에 의한 에탄올의 흡착이 효소/지지체의 촉매계에 이루어질 수 있고 이 에탄올은 효소 저해제 역할을 하여 촉매 활성이 저하됨에 따라 초기반응속도와 전환율이 낮아질 수 있다. 에탄올의 효소와 celite에 대한 각각의 흡수율은 41%와 17%이었

다. 이 결과는 에탄올이 celite보다는 효소에 친화적이고 더 흡착된다는 것을 말한다. 에탄올의 흡수율은 건조된 효소 또는 celite를 24시간 이상 에탄올에 침적시킨 후에 침적 전·후의 무게의 비율((wet solid - dry solid)/dry solid)로부터 측정된 것이다. 한편 소수성인 데칸올은 효소와의 친화력도 크지 않고 물과 섞이지 않기 때문에 첨가된 물은 촉매계와 유리되지 않고 효소/지지체에 흡착 또는 흡수되어 촉매의 활성을 돕는다. 따라서 소수성 알콜을 사용한 에스테르화 반응은 친수성 알콜에 비해 효소 촉매의 활성이 최적으로 이루어져 초기 반응속도와 전환율이 높은 것으로 사료된다.

화학적인 가수분해반응

일반적으로 수용액상에서는 에스테르의 용해도가 낮기 때문에 가수분해 반응이 느리다. 따라서 본 연구에서는 에스테르의 용해도를 높이기 위해 친수성 유기용매인 DMSO를 사용하여 가수분해반응을 수행하였다. 에스테르화 반응에서 제조된 S-(+)-ibuprofen alkyl esters를 화학적인 방법으로 가수분해한 결과가 Figure 6에 나타나 있다. 에스테르의 알킬 체인 길이에 관계 없이 3시간이 지나면 전환율이 90% 이상이었으며, 7시간 이후의 평형 전환율은 약 97±2%로 거의 일정하였다. 이와 같은 화학적인 가수분해반응은 lipase에 의한 반응과 큰 대조를 이룬다. Jin(14)의 결과에 따르면 lipase에 의한 ketoprofen alkyl ester의 가수분해 반응에서 methyl 그룹과 hexyl, decyl과의 전환율의 차이가 40% 이상으로 나타났으며 methyl 그룹이 월등히 높았다. 화학적인 가수분해반응은 알콜 체인의 길이에 따라 큰 영향을 받지 않았지만 반면에 lipase에 의한 가수분해 반응은 알콜 종류에 따라 전환율이 크게 달라진다는 것을 알 수 있다. Table 2는 가수분해반응의 초기 반응속도와 가수분해반응 전·후의 enantiomeric excess(ee) 비교결과를 보여준다. 앞에서 언급한 효소 촉매에 의한 에스테르화 반응의 결과와는 달리, 화학적인 가수분해 반응에서 알콜 종류에 따른 초기반응속도는 크게 변하지 않았으며, 또한 입체 선택성(ee)도 알킬 체인의 길이에 따라 영향을 거의 받지 않았다.

Table 2. Comparison of initial reaction rate of chemical hydrolysis and enantiomeric excess of before and after chemical hydrolysis

Alcohol	Initial reaction rate (μmol/hr)	Enantiomeric excess(%)	
		Before hydrolysis	After hydrolysis
Ethanol	94.52	96.23	93.71
1-Butanol	163.45	99.55	95.82
1-Hexanol	212.11	98.77	98.19
1-Octanol	222.62	98.75	98.07
1-Decanol	143.66	98.91	98.10

Table 3. Overall yield of S-(+)-ibuprofen from racemic ibuprofen by optical resolution using esterification and hydrolysis

Alcohols	Esterification ^a	Hydrolysis ^b	Overall yield
Ethanol	7.28	98.67	7.18
Butanol	17.57	98.16	17.25
Hexanol	44.66	98.91	44.17
Octanol	69.90	99.31	69.42
Decanol	72.82	95.47	69.51

^aEsterification catalyzed by *Candida rugosa* lipase(Figure 5), ^bHydrolysis chemically catalyzed with H₂SO₄

총괄 수율

알콜 종류에 따라 racemic ibuprofen을 에스테르화 반응을 하고 분리·정제 단계를 거쳐 순수한 S-(+)-ibuprofen alkyl ester를 제조한 후, 가수분해반응을 수행하여 얻은 최종 수율 결과를 Table 3에 나타낸다. Table 3에서 보는 바와 같이 알콜 체인의 길이에 따라 화학적인 가수분해반응의 수율 변화는 거의 없으나 lipase에 의한 에스테르화 반응의 수율은 큰 차이를 보였다. 황산을 촉매로 사용하는 가수분해반응의 수율은 알콜 종류에 큰 영향을 받지 않았으나 lipase에 의한 에스테르화 반응의 수율은 알콜 체인의 길이에 따라 큰 영향을 받았다는 것을 의미한다. 따라서 racemic ibuprofen으로부터 순수한 광학 이성질체인 S-(+)-ibuprofen을 분리하는 방법에 있어서 효소를 이용한 에스테르화 반응이 결정적인 단계로서 알콜 기질의 선택이 중요하다. 더욱이 에스테르화 반응의 알콜 농도와 반응 온도 조건을 최적화하면 S-(+)-ibuprofen의 수율을 극대화할 수 있다.

요약

Candida rugosa lipase를 이용하여 효소 농도, 반응온도, 알콜 농도 및 종류 등의 반응조건에 따른 racemic ibuprofen 에스테르화 반응의 초기반응속도, 전환율 그리고 입체 선택성을 조사하였다. 제조된 S-(+)-ibuprofen alkyl ester는 황산을 촉매로 하는 가수분해반응에 의해 순수한 S-(+)-ibuprofen으로 전환되었다.

에스테르화 반응에서는 반응온도 60℃에서 최대 활성을 보였으며, 그 이상의 온도에서는 효소의 활성 저하로 전환율과 enantiomeric excess값이 동시에 현격하게 감소하는 경향을 보였다. 알콜 농도가 증가할수록 알콜의 효소반응 저해제 작용으로 인하여 초기반응속도가 감소하는 경향을 보였으며, 최종 전환율은 Ibuprofen과 Alcohol의 몰 비가 1/1에서 최고 값을 나타냈다. 알콜 종류에 따른 알콜을 체인 길이가(C₂~C₁₀) 증가할수록 전환율은 증가하였는데, 특히 알콜을 체인 길이가 가장 큰 데칸올이 가장 높은 전환율을 보였다. 반응온도가 60℃ 이상의 높은 경우를 제외하고 에스테르화 반응 조건에 따라 입체 선택성 즉 enantiomeric excess의 큰 변화는 없었다.

화학적 가수분해 반응은 비교적 짧은 반응시간(3시간)내에 평형반응에 도달하였으며, 알콜을 체인 길이에 관계없이 거의 95% 이상의 높은 전환율 및 입체 선택성을 나타냈다.

Lipase에 의한 ibuprofen 에스테르화 반응의 최적 조건과 화학적인 가수분해 반응을 통해서 racemic ibuprofen으로부터 높은 수율의 S-(+)-ibuprofen을 확보할 수 있었다.

ibuprofen: Evidence for metabolic inversion of the (-) isomer, *J. Pharm. Pharmacol.* **28**, 256-257.

- Henke, E., S. Sascha, Y. Hong and U. T. Bornscheuer (2000), Lipase-catalyzed resolution of Ibuprofen, *Monatshefte fur Chemie.* **131**, 633-638.
- Chen, J. C. and S. W. Tsai (2000), Enantioselective synthesis of (S)- Ibuprofen ester prodrug in cyclohexane by *candida rugosa* lipase immobilized on Accurel MP 1000, *Biotechnol. Prog.* **16**, 986-992.
- Sakaki, K., G. Lidietta, and E. Drioli (2001), Lipase-catalyzed optical of racemic naproxen in biphasic enzyme membrane reactors, *J. Membrane Sci.* **184**, 27-38.
- Sih, C. J., Q. M. Gu, G. Fulling, S. H. Wu, and D. R. Reddy (1988), The use of microbial enzymes for the synthesis of optically active pharmaceuticals, *Dev. Microb.* **29**, 221-229.
- Mustranta, A. (1992), Use of lipases in the resolution of racemic ibuprofen, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **38**, 61-66.
- Chen, C. S. and C. J. Sih (1989), General aspects and optimization of enantioselective biocatalysis in organics solvents : the use of lipases, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **28**, 695-270.
- Roure, F, A. Ducret, M. Trani, and R. Lortie (1997), Enantioselective esterification of racemic ibuprofen in solvent media under reduced pressure, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **69**, 266-270.
- Tsai, S. W., J. J. Lin, C. S. Chang, and J. P. Chen (1997), Enzymatic synthesis of (S)-ibuprofen ester prodrug from racemic ibuprofen by lipase in organic solvents, *Biotechnol. Prog.* **13**, 82-88.
- Kim, M. G. and S. B. LEE (1996), Enzymatic resolution of racemic ibuprofen by lipase-catalyzed esterification reaction : effects of water content and solid supports, *J. Ferm.. Bioeng.* **81**(3), 269-271.
- Yang, F. and A. J. Russell (1995), A comparison of lipase-catalyzed ester hydrolysis in reverse micells, organic solvents and biphasic systems, *Biotechnol. Bioeng.* **47**, 60-70.
- Xie, Y. C., H. Z. Liu, and J. Y. Chen (1998), *Candida rugosa* lipase catalyzed esterification of racemic ibuprofen with butanol: racemization of R-ibuprofen and chemical hydrolysis of S-ester formed, *Biotechnol. Lett.* **20**, 455-458.
- Arroyo, M. and J. V. Sinisterra (1994), High enantioselective esterification of 2-arylpropionic acids catalyzed by immobilized lipase from *candida antarctica*: A mechanistic approach, *J. Org. Chem.* **59**, 4410-4417.
- Jin, J. N. and S. B. Lee (2001), Enzymatic hydrolysis of ketoprofen esters in a solvent-free two phase system, *In Theories and Applications of Chemical Engineering; Proc. KICHe Fall Meeting 2001*, Daejeon pp 4031-4034.
- Dean, J. A. (1992), *Lange's Handbook of Chemistry*, 14th ed., McGraw Hill, New York.

REFERENCES

- Adams, S. S., P. Bresloff, and C. G. Mason (1976), Pharmacological difference between the optical isomers of