

파클리탁셀의 잔류 펜탄 제거를 위한 회전증발의 동역학 및 열역학에 관한 연구

한장훈 · 지성빈 · 김예솔 · 이승현 · 박서희 · 김진현[†]

공주대학교 화학공학부
31080 충청남도 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2017년 6월 1일 접수, 2017년 8월 3일 수정본 접수, 2017년 8월 4일 채택)

Study on Kinetics and Thermodynamics of Rotary Evaporation of Paclitaxel for Removal of Residual Pentane

Jang Hoon Han, Seong-Bin Ji, Ye-Sol Kim, Seung-Hyun Lee, Seo-Hui Park and Jin-Hyun Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 1223-24, Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan, Chungnam, 31080, Korea
(Received 1 June 2017; Received in revised form 3 August 2017; accepted 4 August 2017)

요 약

본 연구에서는 회전증발에서 건조 온도에 따른 파클리탁셀의 잔류 펜탄 제거 효율에 대해 조사하였으며 건조 공정에 대한 동역학 및 열역학적 해석을 수행하였다. 모든 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)에서 건조 초기에 많은 양의 잔류용매가 제거되었으며 건조 온도가 증가할수록 건조 효율은 증가하였다. 동역학적 해석을 위해 실험데이터 값을 다섯 종류의 건조 모델식(Newton, Page, Modified Page, Henderson and Pabis, Geometric)에 적용하였으며, 이 중 Henderson and Pabis 모델이 큰 결정계수 값과 작은 평균평방근편차 RMSD 값을 가져 가장 적합함을 확인하였다. 또한 열역학적 해석을 수행한 결과, 회전증발에서의 활성화 에너지 E_a 는 4.9815 kJ/mol이었으며, 표준 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^0)는 음수 값인 반면 표준 엔탈피 변화(ΔH^0)와 표준 엔트로피 변화(ΔS^0)는 양수 값을 나타내어 건조 공정이 자발적 흡열반응이며 비가역적으로 수행됨을 알 수 있었다.

Abstract – This study investigated the removal efficiency of residual pentane from paclitaxel according to the drying temperature in the case of rotary evaporation, and performed a kinetic and thermodynamic analysis of the drying process. At all the temperatures (25, 30, 35, 40, and 45 °C), a large amount of the residual solvent was initially removed during the drying, and the drying efficiency increased when increasing the drying temperature. Five drying models (Newton, Page, modified Page, Henderson and Pabis, Geometric) were then used for the kinetic analysis, where the Henderson and Pabis model showed the highest coefficient of determination (r^2) and lowest root mean square deviation (RMSD), indicating that these models were the most suitable. Furthermore, in the thermodynamic analysis of the rotary evaporation, the activation energy (E_a) was 4.9815 kJ/mol and the standard Gibbs free energy change (ΔG^0) was negative, whereas the standard enthalpy change (ΔH^0) and standard entropy change (ΔS^0) were both positive, indicating that the drying process was spontaneous, endothermic, and irreversible.

Key words: Paclitaxel, Rotary evaporation, Residual pentane, Kinetics, Thermodynamics

1. 서 론

파클리탁셀(paclitaxel)은 디테르페노이드(diterpenoid)계 항암물질로 주목나무(yew tree)의 껍질에서 발견되어 1971년 Wani 등[1]에 의하여 화학적 구조(Fig. 1)가 규명되었다. 파클리탁셀은 미국 식품의약국(food and drug administration, FDA) 허가를 취득하여

유사분열기 암세포의 분열을 억제하는 독특한 항암기작을 가지며, 난소암, 유방암, 카포시 육종(kaposi's sarcoma) 및 비소세포성 폐암(non-small cell lung cancer, NSCLC) 치료에 사용되고 있는 항암제이다[2]. 또한 류마티스성 관절염, 알츠하이머 치료 등의 적응증이 계속 확대되고 있으며, 다른 치료 방법들과의 복합처방에 관한 임상시험이 진행 중에 있어 파클리탁셀의 수요는 계속 늘어날 전망이다[3,4]. 파클리탁셀의 주요 생산방법은 주목나무로부터 직접 추출하는 방법[5], 주목나무의 잎에서 전구체(precursor)를 얻어 결사슬(side chain)을 화학적으로 결합하는 반합성(semi-synthesis) 방법[6], 주목나무에서 캘러스(callus)를 유도하고 종균배양(seed culture)을 거쳐 주배양기(main bioreactor)에서 식물세포배양을 하

[†]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.

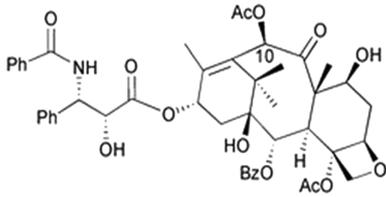


Fig. 1. The chemical structure of paclitaxel [1].

여 얻는 방법이 있다[7]. 이들 중 식물세포배양법은 기후, 환경, 원료공급, 수확시기 등 외부인자의 영향을 받지 않고 생물반응기 내에서 안정적인 생산이 가능하기 때문에 일정한 품질의 파클리탁셀을 대량 생산할 수 있어 수요증가에 충분히 대처할 수 있는 장점이 있다[8].

원료의약품(active pharmaceutical ingredient, API)의 형태(morphology)는 완제의약품의 제형 과정뿐만 아니라 제품 안정성에도 많은 영향을 미친다. 원료의약품의 형태는 제품의 용해도, 용해 속도, 그리고 생체 이용률 제어에 매우 중요한 변수이다[9,10]. 결정형(crystalline form)에 비해 무정형(amorphous form) 원료의약품은 용해도(solubility), 용해 속도(dissolution rate), 약물 분산의 균일성(uniformity of drug dispersion), 생체 내 이용효율(bioavailability) 측면에서 많은 이점을 제공하기 때문에 상당히 주목 받고 있다[11]. 특히 안정한 결정형과 비교해 무정형 형태의 용해도는 1.1~24배 정도 우수한 것으로 보고되고 있다[9]. 따라서 정제된 원료의약품의 형태를 효율적으로 제어 방법의 개발은 최종의약품의 제조, 특히 제형 공정에 매우 유용하게 활용 될 수 있다[12,13]. 1997년 Liggins 등[14]에 의하여 solid-state paclitaxel의 형태를 조절할 수 있는 방법이 개발되기는 하였으나 제조 조건이 매우 고온에서 이루어지므로 실용적이지 못한 단점이 있다. 이를 대체하기 위해 2011년 최종 정제된 파클리탁셀의 형태를 용매처리(solvent treatment)에 의하여 간단하게 조절할 수 있는 용매유도 방법(solvent-induced method)이 개발되었다[15].

미국 약전(USP 27-NF22)에 제시되어 있는 파클리탁셀의 품질 요구 조건에 의하면 정제된 파클리탁셀의 순도, 불순물 및 내독소(endotoxin) 함량, 잔류용매 및 잔류수분 함량 등이 충족되어야 한다. 특히 잔류용매의 경우 국제적으로 통용되고 있는 International Conference on Harmonisation (ICH) Q3C guidance에 의해 엄격하게 규제되고 있다[16]. 예를 들면, 펜탄(pentane), 메탄올(methanol), 메틸렌 클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane), 클로로폼(chloroform)의 경우 각각 ICH 규정치 5,000, 3,000, 600, 290, 60 ppm을 충족해야 한다. 펜탄의 경우 ICH Q3C guidance에 의하면 Class 3에 해당되는 용매로 독성이 비교적 적으며 인체 유해성도 상대적으로 낮기는 하지만 의약품 제조 과정에서 반드시 ICH 규정치 이하로 제거되어야 한다[16,17].

원료의약품의 잔류용매에 대한 규정을 충족시키기 위해서는 건조 방법이 중요하다. 일반적으로 회전증발, 초임계 이산화탄소를 이용한 건조 방법, 분무 건조(spray drying), 마이크로웨이브를 이용한 건조(microwave-assisted drying) 방법 등이 있다[18-22]. 초임계 이산화탄소를 이용한 건조 방법은 고압장치가 요구되며, 고압 조건에서의 조업에 따른 파클리탁셀의 분해(decomposition)가 야기될 수 있다[22]. 분무건조 방법은 잔류용매 농도를 규정치로 맞추기 위하여 긴 조업 시간이 요구되며 장비 설치를 위한 많은 공간이 필요하다[20]. 마이크로웨이브를 이용한 건조 방법은 고가의 장치 비용이 발

생하며, 공정이 복잡하고 많은 에너지가 소모되어 산업적 대량생산 공정에 적용하기에 한계가 있다[20]. 반면 회전 증발 건조는 다른 건조 방법에 비해 용기 내부의 압력을 낮게 유지하여 용매의 끓는 점을 낮추기 때문에 용매를 제거하는 과정에서 시료를 지나친 열에 노출하는 것을 피할 수 있으며 시료의 농축 및 건조가 용이하고 조업이 간단한 장점이 있다.

따라서 본 연구에서는 간단하고 효율적인 회전증발 건조 방법을 통하여 파클리탁셀의 잔류 용매인 n-펜탄(n-pentane)를 효과적으로 제거하고자 하였으며, 회전증발에 대한 동역학 및 열역학적 해석을 수행하여 건조 공정에 대한 유용한 정보를 제공하고자 하였다. 또한 Newton, Page, Modified Page, Henderson and Pabis, Geometric 건조 모델식을 적용하여 실험 데이터를 잘 표현 할 수 있는 모델식을 선정하였다. 아울러 열역학적 파라미터인 Gibbs 자유에너지 변화, 엔탈피 및 엔트로피 변화 및 활성화 에너지(activation energy)를 조사하여 회전증발 건조 방법을 통한 건조 과정에서의 반응 진행 양상을 정량적으로 해석하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 식물재료

본 실험에 사용된 파클리탁셀은 식물세포 *Taxus chinensis*의 잎으로부터 유도된 세포주(cell line)를 현탁배양(24 °C, 150 rpm, 암조건)하여 얻었다[23]. 식물세포배양 후 배양액으로부터 decanter (Westfalia, CA150 Clarifying Decanter)와 고속 원심분리기(α -Laval, BTPX205GD-35CDEEP)를 이용하여 식물세포(바이오매스)를 회수하였으며 (주)삼양바이오팜으로부터 제공받았다.

2-2. 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 아세토니트릴/중류수(65/35~35/65, v/v, gradient mode) 용액을 유속 1.0 mL/min으로 흘려주었다. 시료 주입량은 20 μ L이며 227 nm에서 UV detector에 의해 검출하였다[18,24]. HPLC 분석은 표준정량곡선을 이용하였으며 표준시료는 Sigma-Aldrich 제품(순도: 98.7%)을 사용하였다.

2-3. 회전증발을 위한 시료준비

식물세포배양액으로부터 회수한 바이오매스(수분함량: 75~80%, w/w)와 메탄올의 비율을 1/1 (w/v)로 하여 상온에서 4회 반복 추출하였으며 추출액을 농축(원액의 30%)한 후 액-액 추출을 수행하였다. 농축된 메탄올 용액에 메틸렌 클로라이드를 첨가(메탄올 농축액의 25%)하고, 30 분 동안 교반 후 정체를시켜 상 분리를 유도하였다. 액-액 추출을 3회 반복 수행하여 파클리탁셀이 포함된 하층인 메틸렌 클로라이드 층으로 파클리탁셀을 회수하여 농축하고 진공 건조하였다. 식물세포 유래 타르 및 왁스 성분을 제거하기 위하여 건조된 추출물(crude extract)을 메틸렌 클로라이드에 20% (w/w) 비율로 녹이고 흡착제인 실로퓨트(Fuji Silysia Chemical Ltd., Japan)를 건조된 추출물 대비 50% (w/w) 비율로 첨가하여 40 °C 항온조(PS-1000, EYELA, Japan)에서 30 분 동안 교반하고 반응시킨 후 여과하였다. 여과액은 30 °C, 감압 상태에서 건조하여 헥산 침전 공정에 이용하였다. 건조된 시료를 메틸렌 클로라이드에 녹여 헥산

에 떨어뜨려 침전을 유도하여 비극성불순물(non-polar impurity)을 제거하였다(메틸렌 클로라이드/헥산=1/10, v/v). 헥산 침전 후 여과를 통하여 파클리탁셀 침전물을 얻고 35 °C에서 24 시간 동안 진공오븐(UP-2000, EYELA, Japan)으로 건조하였다. 헥산 침전을 통하여 얻은 추출물을 메탄올에 용해하고(순수 파클리탁셀 기준: 0.5%, w/v) 메탄올이 61.5%가 될 때까지 증류수를 한 방울씩 천천히 떨어뜨린 후 4 °C에서 냉장 보관하여 파클리탁셀 침전물을 얻었다. 침전 후 침전물을 여과하고 35 °C에서 24 시간 동안 진공 건조하였다. 그리고 최종 정제 공정은 ODS (C₁₈) 컬럼(50 mm×500 mm, Shiseido, Japan)과 Silica 컬럼(50 mm×500 mm, Shiseido, Japan)으로 구성된 HPLC로 수행하였다. ODS 컬럼 HPLC의 경우 시료 주입량은 50-150 mg/mL (메탄올), 유속은 3-5 cm/min, UV detector의 파장은 227 nm, 용리 조건은 메탄올/증류수(65/35, v/v)로 하였다. Silica 컬럼 HPLC의 경우 시료 주입량은 50-150 mg/mL(메틸렌 클로라이드), 용리 조건은 메틸렌 클로라이드/메탄올(98/2, v/v)로 하였으며 UV detector의 파장은 227 nm에서 측정하였다[25]. 최종 정제된 파클리탁셀 순도는 98.7%이었다. 본 연구의 회전증발을 위한 시료 준비 과정은 기존 문헌[18]에 자세히 기술되어 있다.

2-4. 무정형 파클리탁셀의 회전증발 방법

무정형 파클리탁셀을 유도하고 잔류용매를 제거하기 위해서 시료(순도: 98.7%)를 비극성용매인 펜탄에 녹인 다음 회전증발기(CCA-1100, EYELA, Japan)를 이용하였다. 건조 과정에서 파클리탁셀 분해를 고려하여 건조 온도는 50 °C 이하인 25, 30, 35, 40, 45 °C에서 감압 농축하여 건조하였다[2]. 건조 시간에 따른 건조된 시료는 디메틸아세트아미드(dimethylacetamide)에 용해시킨 후 기체 크로마토그래피(gas chromatography)로 분석하여 잔류 펜탄의 농도를 확인하였다.

2-5. 잔류용매 분석

파클리탁셀 내 잔류용매인 펜탄은 기체 크로마토그래피(YL6500GC, Yong-rin, Korea)를 이용하여 분석하였다. 분석조건은 HP-5 컬럼(25 m, 0.33 mm film, 0.20 mm ID) 및 FID (flame ionization detector)를 통해 분석하였으며, 컬럼 내에서의 분리온도는 40-250 °C까지 18 °C/min의 속도로 프로그래밍하여 사용하였다. 사용 가스는 헬륨이며 0.7 mL/min 유속으로 분석하였다.

2-6. 펜탄 함량비

펜탄 함량비는 제품 건조를 위한 시스템 설계 및 운영에 기초가 되는 매우 중요한 인자 중의 하나이며 식 (1)과 같이 나타낼 수 있다[26].

$$PR = \frac{P_i - P_e}{P_i - P_e} \tag{1}$$

여기서 PR은 펜탄 함량비이며, P_i는 건조 시간에 따른 펜탄 함량, P_e는 평형 펜탄 함량, P_i는 초기 펜탄 함량이다.

2-7. 동역학 모델

Newton 건조 모델식은 Newton의 냉각법칙에 기초하여 다공성 흡습성(porous hygroscopic) 물질들을 건조하는 동안 수분 증발속도는 현재의 함수율과 예측되는 함수율의 차이에 비례한다고 가정

하여 만들어졌으며 식 (2)와 같은 직선식으로 나타낼 수 있다[27].

$$\ln(PR) = -kt \tag{2}$$

여기서 k는 건조 속도상수(h⁻¹), t는 건조 시간(h)을 나타낸다.

Page 건조 모델식은 Newton 건조 모델식의 건조 시간(t)에 무차원 상수(n)을 도입하여 시간 효과를 완화시킴으로써 수분 손실의 예측에 보다 효과적이다[28]. 추가적으로 옥수수 건조에 대한 연구를 위해 1978년 White 등에 의해 Page 모델식이 Modified Page 건조 모델식으로 수정되었다[29]. Page 모델식과 Modified Page 모델식은 식 (3), (4)와 같이 직선식으로 나타낼 수 있다.

$$\ln(-\ln(PR)) = n \ln t + \ln k \tag{3}$$

$$\ln(-\ln(PR)) = n \ln t + n \ln k \tag{4}$$

여기서 k는 건조 속도상수(h⁻¹), t는 건조 시간(h), n은 무차원 상수를 나타낸다.

Henderson and Pabis 건조 모델식은 Fick's second law에 기초하여 만들어졌으며 다양한 근사치와 변화들에 대한 음식물의 건조 양상을 시뮬레이션 하기 위해 사용되었다[30]. Henderson and Pabis 건조 모델식은 식 (5)와 같이 직선식으로 나타낼 수 있다.

$$\ln(PR) = \ln a - kt \tag{5}$$

여기서 k는 건조 속도상수(h⁻¹), a는 무차원 상수를 나타낸다.

Geometric 건조 모델식은 경험식으로 다양한 음식물들의 건조 양상을 시뮬레이션 하기 위해 만들어졌으며 반이론적 모델(semi-theoretical model)의 특성과 비슷한 경향을 가지고 있다[31]. Geometric 건조 모델식은 식 (6)과 같이 직선식으로 나타낼 수 있다.

$$\ln(PR) = \ln a - n \ln t \tag{6}$$

여기서 a와 n는 무차원 상수를 나타낸다.

2-8. 열역학적 해석

건조 공정의 자발성, 반응열, 가역성 등을 조사하기 위해 열역학적 해석을 수행하는 것은 매우 중요하다. 활성화 에너지(E_a, kJ/mol)는 Arrhenius 식에 따라 건조 속도상수는 식 (7)의 관계를 가지고 있으며 이를 직선 형태인 식 (8)으로 나타낼 수 있다.

$$k_2 = k_0 e^{-E_a/RT} \tag{7}$$

$$\ln k_2 = \ln k_0 + \left(\frac{-E_a}{R}\right) \frac{1}{T} \tag{8}$$

Gibbs 자유에너지 변화(ΔG, kJ/mol)는 반응의 자발성을 나타내는 지표로서 음의 값을 가지면 자발성, 양의 값을 가지면 비자발성을 나타낸다. 엔탈피 변화(ΔH, kJ/mol)는 반응열을 나타내는 지표로서 음의 값을 가지면 발열반응으로 반응 시 주변에 열을 방출하고, 양의 값을 가지면 흡열반응으로 반응 시 주변의 열을 흡수한다. 엔트로피 변화(ΔS, J/mol·K)는 반응의 무질서도를 나타내는 지표로서 0의 값을 가지면 반응이 가역적이고 0보다 큰 값을 가지면 반응이 비가역적임을 나타낸다. 활성화 파라미터(activation parameter)인 활성화 엔탈피 변화(ΔH*)와 활성화 엔트로피 변화(ΔS*)는 Henderson and Pabis 건조 모델식의 속도상수 k를 이용하여 k와 건조 온도를 통해 식 (9)에 나타난 Eyring 식에 따라 ΔH*와 ΔS*를 구할 수 있으며 또

한 식 (10)를 통해 활성화 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^*)를 구할 수 있다.

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^*}{RT} + \ln \frac{k_b}{h} + \frac{\Delta S^*}{R} \quad (9)$$

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^* \quad (10)$$

여기서 R은 기체상수(8.314 J/mol·K), T는 절대온도(K)이며, k는 건조 속도상수, k_b 는 Boltzmann 상수(1.3807×10^{-23} J/K), h는 Planck 상수(6.6261×10^{-34} J·s)이다. 또한 열역학적 파라미터(thermodynamic parameter)인 표준 엔탈피 변화(ΔH^0)와 표준 엔트로피 변화(ΔS^0)는 식 (11)에 나타난 평형상수(K_e)와 van't Hoff 식을 나타낸 식 (12)을 통해 구할 수 있으며 표준 Gibbs 자유에너지 변화(ΔG^0)는 식 (13)를 통해 구할 수 있다.

$$K_e = \frac{C_e}{C_{se}} \quad (11)$$

$$\ln K_e = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} \quad (12)$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_e \quad (13)$$

여기서 C_e 는 파클리타셀에서 제거된 펜탄의 양(ug/g), C_{se} 는 파클리타셀에 남아있는 펜탄의 양(ug/g)이다.

2.9. 동역학 모델의 적용 가능성

건조 모델에서 각각의 매개변수들은 시그마플롯 10.0(Systat Software Inc., USA)의 직선 회귀분석을 이용하여 직선 형태 식으로부터 구하였다. 실험값과 계산값 사이의 관계는 결정계수(coefficient of determination, r^2)와 평균평방근편차(root mean squared deviation, RMSD)를 구함으로써 비교하였다. 평균평방근편차는 다음과 같이 구할 수 있다.

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=0}^n (\text{experimental} - \text{calculated})^2} \quad (14)$$

여기서 n은 실험 횟수를 나타낸다. 결정계수는 1에 가까울수록, 평균평방근편차는 작을수록 실험값과 계산값 사이의 오차가 적음을 의미한다. 이를 통해서 각 모델식의 적용 가능성을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 건조 온도 및 시간에 따른 펜탄 함량 변화

일반적으로 무정형 형태의 파클리타셀은 제형 시 용해 속도, 약물 분산의 균일성, 경구 생체 이용 효율 측면에서 효율적이다. 기존 연구에 의하면, 용매유도방법으로 쉽게 파클리타셀 형태를 조절할 수 있는 연구[17]가 수행되었으나, 용매유도방법으로부터 제조된 무정형 파클리타셀의 잔류용매를 효율적으로 제거하는 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 비극성용매인 펜탄으로부터 제조된 무정형 파클리타셀의 잔류용매를 효율적으로 제거하기 위한 건조 방법을 모색하였다. 잔류 펜탄 제거를 위하여, 건조 온도 25, 30, 35, 40, 45 °C와 건조 시간 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 분에서 각각 실험을 수행하였다. 회전증발에 의해 시료를 건조할 경우, 건조 시간에 따른 잔류 펜탄의 함량(농도) 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 건조 온도 45 °C와 40 °C에서 잔류 펜탄 농도가 건조 20 분과 40

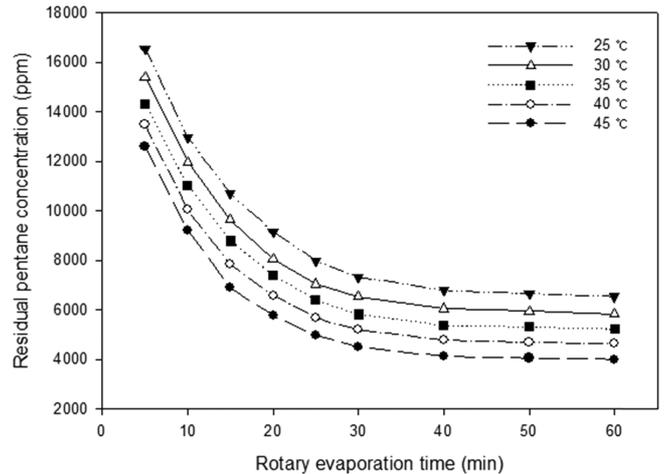


Fig. 2. Effect of drying time on the residual pentane concentration at different temperatures in rotary evaporation.

분에 각각 4,872 ppm과 4,981 ppm을 나타내어 ICH 기준치(5,000 ppm)를 충족시켰으며, 나머지 온도(25, 30, 35 °C)에서는 주어진 건조 시간(60 분) 동안 ICH 기준치를 충족시키지 못하였다. 모든 건조 온도에서 건조 초기에 잔류 펜탄 함량이 급격히 감소하다 이후 완만하게 감소하였으며 건조 40 분경에 평형에 도달하였다. 비극성용매인 펜탄으로부터 유도된 무정형 파클리타셀의 잔류 펜탄은 회전증발만으로도 효율적으로 제거되었으며 특히 건조 온도 40, 45 °C에서는 ICH 기준치를 쉽게 충족시킬 수 있었다. 건조 초기에는 시료의 잔류 펜탄 함량이 상대적으로 높아 용매 확산이 빠르게 일어나고 이로 인해 건조 효율이 향상되는 것으로 판단된다[32,33]. 또한 건조 온도가 증가할수록 파클리타셀의 잔류용매 제거 효율도 증가하였다. 건조 온도가 높을수록 복사에너지가 증가되어 잔류용매 증발에 이용되는 잠열량이 많아 건조 속도가 빨라지는 것이라 판단된다[34]. 따라서, 펜탄으로부터 유도된 무정형 파클리타셀의 경우 단순 회전증발만으로 건조 1 시간 내에 잔류 펜탄 농도의 ICH 기준치를 쉽게 충족시킬 수 있어, 무정형 파클리타셀 제조 및 잔류용매 제거 측면에서도 효율적임을 알 수 있었다.

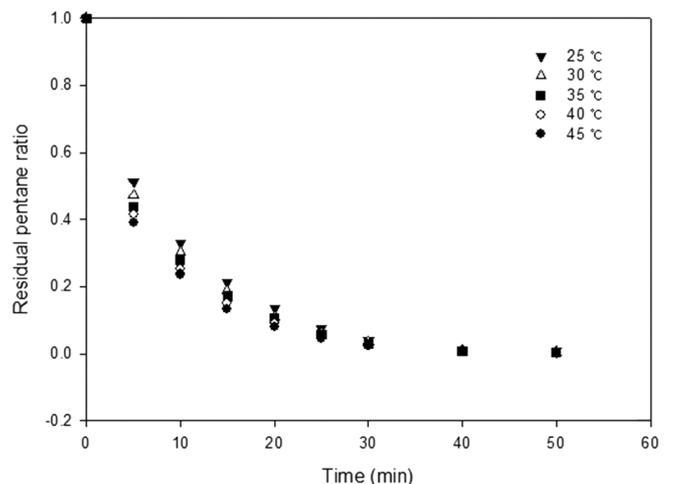


Fig. 3. Effect of drying time on the residual pentane ratio at different temperatures in rotary evaporation.

3-2. 동역학적 해석

건조 시간에 따른 잔류 펜탄의 함량비 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 정량적인 건조 양상을 조사하기 위하여, 대표적인 다섯 가지 건조 모델식[27-31] Newton, Page, Modified Page, Henderson and Pabis, Geometric에 실험 데이터를 적용하였다. 결정계수(coefficient of determination) 과 평균평방근편차 RMSD (root mean square deviation) 로 모델의 적합성을 비교하였다. Newton, Page, Modified Page, Henderson and Pabis, Geometric 건조 모델식의 직선식을 도식화하

여 Fig. 4에 나타내었으며, 직선의 기울기와 절편으로부터 계산된 매개변수, 결정계수, 평균평방근편차는 Table 1에 정리하였다. Newton 모델식으로부터 계산된 k 값은 0.1029~0.1163, Page 모델식으로부터 계산된 k 값과 n 값은 각각 0.1403~0.2258, 0.8284~0.9137, Modified Page 모델식으로부터 계산된 k 값과 n 값은 각각 0.1165~0.1659, 0.8284~0.9137, Henderson and Pabis 모델식으로부터 계산된 k 값과 a 값은 각각 0.1029~0.1163, 0.7474~0.9315, Geometric 모델식으로부터 계산된 n 값과 a 값은 각각 1.9413~2.1960, 30.502~24.638을

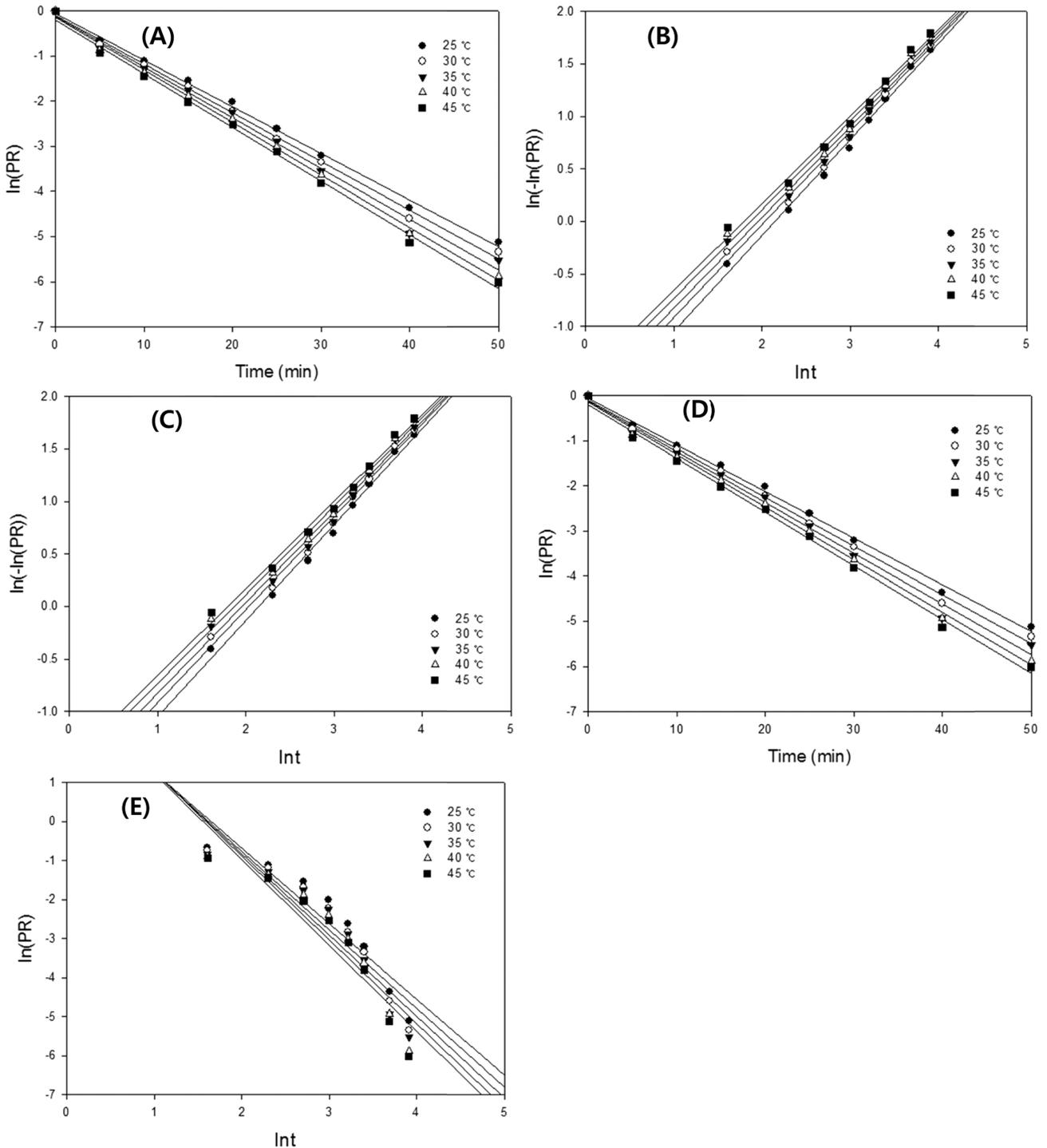


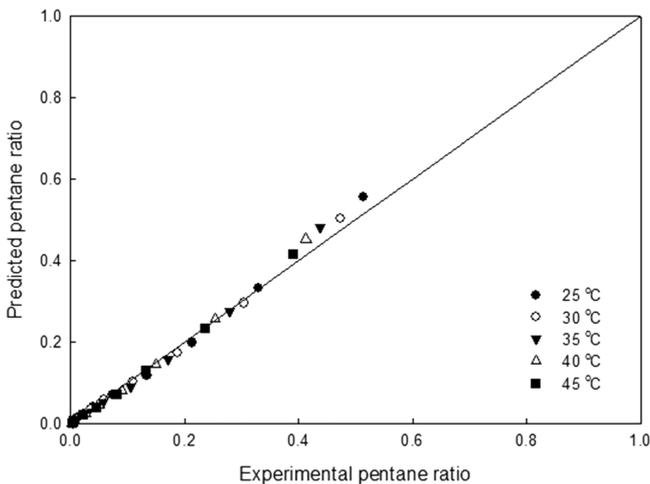
Fig. 4. Rotary evaporation kinetics for paclitaxel using linear form of model at different temperatures: (A): Newton model, (B): Page model, (C): Modified Page model, (D): Henderson and Pabis model, (E): Geometric model.

Table 1. Newton, Page, Modified Page, Henderson and Pabis, and Geometric model constants for the rotary evaporation of paclitaxel

Model	Parameter	Temperature (°C)				
		25	30	35	40	45
Newton	k	0.1029	0.1063	0.1106	0.1141	0.1163
		0.9958	0.9962	0.9906	0.9978	0.9969
	RMSD	0.0415	0.0717	0.0817	0.0983	0.1160
Page	k	0.1403	0.1640	0.1849	0.2081	0.2258
	n	0.9137	0.8856	0.8626	0.8436	0.8284
	RMSD	0.0079	0.0066	0.0073	0.0101	0.0039
Modified Page	k	0.1165	0.1298	0.1413	0.1555	0.1659
	n	0.9137	0.8856	0.8626	0.8436	0.8284
	RMSD	0.0227	0.0162	0.0082	0.0009	0.0005
Henderson and Pabis	k	0.1029	0.1063	0.1106	0.1141	0.1163
	a	0.9315	0.8574	0.8368	0.8015	0.7474
	RMSD	0.0066	0.0019	0.0055	0.0090	0.0051
Geometric	a	24.638	25.855	28.344	29.773	30.502
	n	1.9413	2.0126	2.0867	2.1465	2.1960
	RMSD	0.8773	0.8850	0.8740	0.8748	0.8807
	RMSD	0.3906	0.3502	0.3248	0.2965	0.2729

나타내었다. 건조 온도가 증가할수록 k 값이 증가하여 더 빠르게 건조됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 microwave-assisted drying 에서 건조 온도가 증가함에 따라 더 빠른 속도로 잔류 메틸렌 클로라이드 농도가 감소하는 기존문헌의 연구결과와도 잘 일치하였다[18]. 또한 값과 RMSD 값은 Newton 모델식 0.9906~0.9978와 0.0415~0.1160, Page 모델식 0.9865~0.9923와 0.0039~0.0101, Modified Page 모델

식 0.9865~0.9923와 0.0005~0.0227, Henderson and Pabis 모델식 0.9906~0.9978와 0.0019~0.0090, Geometric 모델식 0.8740~0.8850와 0.2729~0.3906를 나타내었다. 다섯 종류의 건조 모델식을 비교한 결과, Henderson and Pabis 모델식이 가장 높은 r^2 (0.9906~0.9978)과 가장 낮은 RMSD 값(0.0019~0.0090)을 가져 무정형 파클리탁셀의 잔류 펜탄 제거에 가장 적합함을 알 수 있었다. 좋은 통계 모델의 경우 r^2 값은 1.0에 가까워야 하며 0.75보다 큰 값은 모델의 적합성을 나타낸다[35]. Fig. 5에서 보는 바와 같이 실험값과 Henderson and Pabis 모델식에 의한 예측값이 잘 일치함을 알 수 있었다.

**Fig. 5. Comparison of experimental and predicted pentane ratio by Henderson and Pabis model.**

3-3. 열역학적 해석

활성화에너지(E_a)를 구하기 위하여, 다섯 가지 건조 모델식 중 무정형 파클리탁셀의 잔류 펜탄 제거 공정에 가장 적합한 Henderson and Pabis 모델식으로부터 구한 건조 속도상수 k를 Arrhenius 식에 적용하였다. Henderson and Pabis 모델식에서 얻은 건조 속도상수 k와 건조 온도를 Arrhenius 식의 직선 형태인 식 (8)과 같이 직선회귀 분석하여 Fig. 6(A)에 나타내었다. E_a 값은 4.9815 kJ/mol을 나타내었다(r^2 : 0.9902) (Table 2). 양의 활성화 에너지 값은 흡열 공정과 일치하며[18], 파클리탁셀의 잔류 메틸렌 클로라이드 제거에서의 활성화 에너지 값(46.21 kJ/mol)보다는 낮았다[36]. 또한 식품재료 (food material) (12.7~110 kJ/mol), 사과(apple) (51~110 kJ/mol), 무화과(figs) (30.81~48.47 kJ/mol)보다 낮은 활성화 에너지 값을 가졌다[37]. 건조 공정에서의 활성화 파라미터들을 조사하기 위하

Table 2. Activation parameters for the rotary evaporation of paclitaxel at different temperatures

Temperature (°C)	k	E_a (kJ/mol)	ΔH^* (kJ/mol)	ΔS^* (J/mol·K)	ΔG^* (kJ/mol)
25	0.1029				78.61
30	0.1063				79.88
35	0.1106	4.98	2.42	-255.66	81.16
40	0.1141				82.44
45	0.1163				83.72

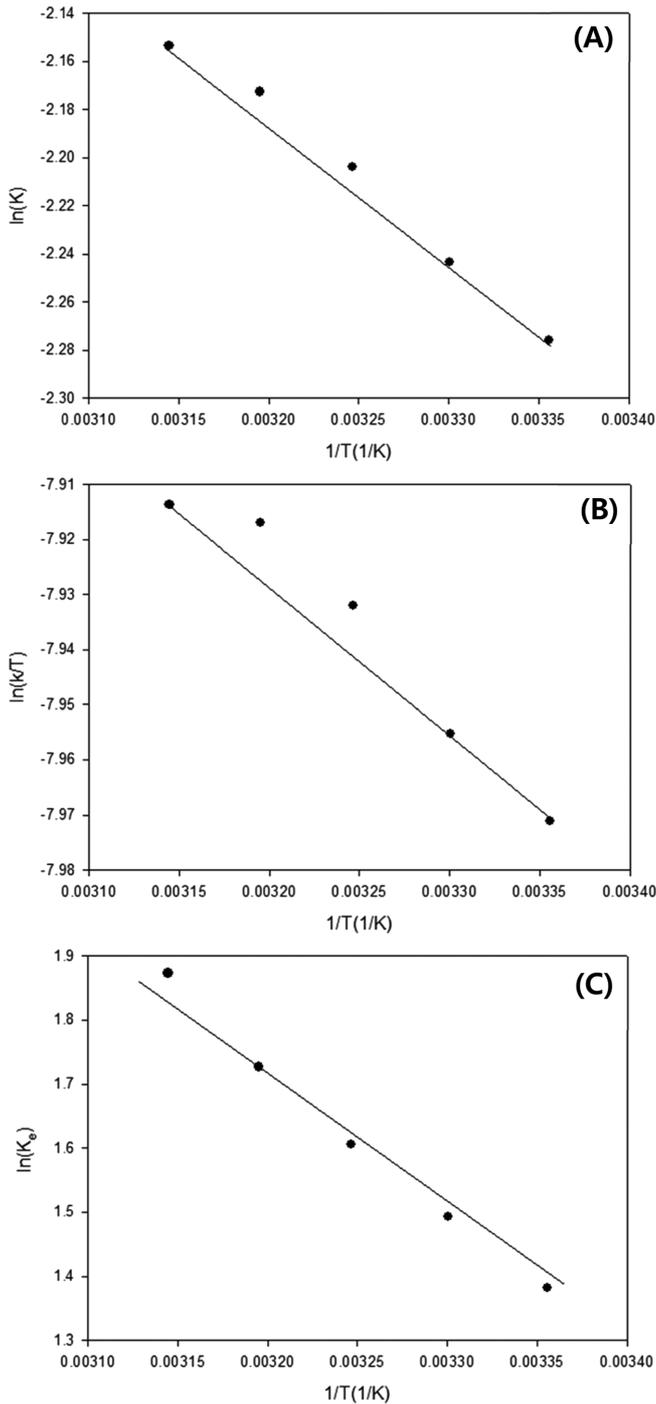


Fig. 6. Plot of $\ln k$ versus $1/T$ (A), $\ln(k/T)$ versus $1/T$ (B), and versus $1/T$ (C) for the rotary evaporation of paclitaxel.

여 Eyring 식을 이용하였다[38]. 실험 데이터를 이용하여 $\ln(k/T)$ 대 $1/T$ 로 도식화하여 Fig. 6(B)에 나타내었다. 기울기와 절편으로부터 활성화 엔탈피 변화(ΔH^*) 및 활성화 엔트로피 변화(ΔS^*), 식 (10)로부터 활성화 Gibbs자유에너지 변화(ΔG^*)를 각각 계산하였다 (Table 2). ΔH^* 의 값은 +2.4228 kJ/mol로 전이상태(transition state)의 활성화물(activated complex) 생성 과정이 흡열(endothermic) 반응이었다. ΔS^* 는 음수 값(-255.6641 J/mol)으로 비가역적이고 결합 메커니즘(associative mechanism)임을 알 수 있었다[37]. ΔG^* 는 건조 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)가 증가할수록 +78.61 < +79.89 < +81.17 <

Table 3. Thermodynamic parameters for the rotary evaporation of paclitaxel at different temperatures

Temperature (°C)	(kJ/mol)	(J/mol·K)	(kJ/mol)
25	3.9875		-3.391
30	4.4520		-3.769
35	4.9832	15.155	75.659
40	5.6210		-4.526
45	6.5069		-4.904

+82.45 < +83.72 < kJ/mol로 증가하였으며, 모두 양의 값으로 비자발적이며 추가적인 에너지가 요구되었다. 또한 열역학적 해석을 위하여, van't Hoff 방정식을 이용하여 $\ln K_e$ 대 $1/T$ 로 도식화하여 Fig. 6(C)에 나타내었다. 기울기와 절편으로부터 표준 엔탈피 변화 (ΔH^0) 및 표준 엔트로피 변화(ΔG^0), 식 (13)로부터 표준 Gibbs 자유 에너지 변화(ΔG^0)을 각각 계산하였다(Table 3). ΔH^0 값은 +15.15519 kJ/mol로 건조 공정이 흡열 반응이며 건조 과정에 에너지가 요구됨을 알 수 있었다. ΔS^0 는 양수 값(+75.65994 J/mol·K)으로 건조 공정이 비가역적임을 알 수 있었다. ΔG^0 는 건조 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)가 증가할수록 각각 -3.391 > -3.769 > -4.148 > -4.526 > -4.904 kJ/mol로 감소하는 경향을 보였다. 따라서 건조 공정이 자발적이며 건조 온도가 증가할수록 더 자발적임을 알 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 건조 온도에 따른 무정형 파클리탁셀의 잔류 펜탄 제거 효율에 대해 조사하였으며 건조 공정에 대한 동역학 및 열역학적 해석을 수행하였다. 모든 건조 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)에서 건조 초기에 잔류 펜탄 함량이 급격히 감소하다 이후 완만하게 감소하였다. 건조 온도가 증가할수록 잔류 펜탄 제거 효율도 증가하였다. 실험값을 다섯 종류의 모델식(Newton, Page, Modified Page, Henderson and Pabis, Geometric)에 적용한 결과, Henderson and Pabis 모델이 가장 큰 결정계수 r^2 값(>0.9906)과 작은 평균평방근 편차 RMSD 값(<0.0066)을 가져 가장 적합하였으며 실험값과 모델식에 의한 예측값이 잘 일치하였다. 또한, 활성화 에너지 E_a 는 4.9815 kJ/mol이었으며 활성화 엔트로피 변화(ΔH^* : -255.6641 J/mol)는 음수 값인 반면 활성화 엔탈피 변화(ΔG^* : +2.4228 kJ/mol)와 활성화 Gibbs 자유에너지 변화: +78.61 kJ/mol (25 °C), +79.89 kJ/mol (30 °C), +81.17 kJ/mol (35 °C), +82.45 kJ/mol (40 °C), +83.72, kJ/mol (45 °C)는 모두 양수 값을 나타내었다. 표준 Gibbs 자유에너지변화: -3391.46 kJ/mol (25 °C), -3769.76 kJ/mol (30 °C), -4148.06 kJ/mol (35 °C), -4526.36 kJ/mol (40 °C), -4904.67 kJ/mol (45 °C)는 음수 값인 반면 표준 엔탈피 변화(ΔH^0 : +15.15519 kJ/mol)와 표준 엔트로피 변화(ΔS^0 : +75.65994 J/mol·K)는 양수 값을 나타내었다. 이러한 결과로부터 건조 공정이 자발적 흡열 반응이며 비가역적으로 수행됨을 알 수 있었다.

Nomenclature

Symbols

a : dimensionless constant

C_e : content of pentane of paclitaxel at any time [ug/g]

C_{se} : content of residual pentane to equilibrium in paclitaxel [ug/g]
 E_a : activation energy (kJ/mol)
 ΔG^* : activation Gibbs free energy change [kJ/mol]
 ΔG^0 : standard Gibbs free energy change [kJ/mol]
 ΔH^* : activation enthalpy change [kJ/mol]
 ΔH^0 : standard enthalpy change [kJ/mol]
 h : Planck constant [$6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1}$]
 K_e : equilibrium constant
 k : drying rate constant (h^{-1})
 k_o : the drying rate constant predicted by the appropriate model
 k_2 : the pre-exponential constant [s^{-1}]
 k_b : Boltzmann constant [$\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$]
 PR : pentane ratio
 M_e : the equilibrium pentane
 M_i : the initial pentane
 M_t : the pentane content at time
 n : dimensionless constant
 R : gas constant [$8.314 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$]
 r^2 : coefficient of determination
 ΔS^* : activation entropy change [$\text{J/mol} \cdot \text{K}$]
 ΔS^0 : standard entropy change [$\text{J/mol} \cdot \text{K}$]
 t : drying time [hr]
 T : absolute temperature [K]

Subscripts

RMSD : root mean squared deviation

감 사

본 연구는 공주대학교 화학공학부 화학공학실험 IV의 실험결과이며 실험에 도움을 주신 화학공학부에 감사 드립니다.

References

- Wani, M. C., Taylor, H., Wall, M. E., Coggon, P. and McPhail, A. T., "Plant Antitumor Agents. VI. The Isolation and Structure of Taxol, A Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus brevifolia*," *J. Am. Chem. Soc.*, **93**(9), 2325-2326(1971).
- Kim, J. H., "Paclitaxel: Recovery and Purification in Commercialization Step," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**(1), 1-10(2006).
- 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**(2), 229-233(2016).
- 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**(2), 188-197(2009).
- Rao, K., Hanuman, J., Alvarez, C., Stoy, M., Juchum, J., Davies, R. and Baxley, R., "A New Large-Scale Process for Taxol and Related Taxanes from *Taxus brevifolia*," *Pharm. Res.*, **12**(7), 1003-1010 (1995).
- Baloglu, E. and Kingston, D. G. I., "A New Semisynthesis of Paclitaxel from Baccatin?," *J. Nat. Prod.*, **62**(7), 1003-1010(1999).
- Choi, H. K., Son, J. S., 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**(1), 59-62(2002).
- 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**(1), 89-93(2016).
- Hancock, B. C. and Parks, M., "What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals," *Pharm. Res.*, **17**(4), 397-404 (2000).
- Hancock, B. C. and Zografi, G., "Characteristics and Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical System," *J. Pharm. Sci.*, **86**(1), 1-12(1997).
- Khadka, P., Ro, J. E., Kim, H. M., Kim, I. S., Kim, J. T., Kim, H. I., Cho, J. M., Yun, G. A. and Lee, J. H., "Pharmaceutical Particle Technologies: An Approach to Improve Drug Solubility, Dissolution and Bioavailability," *Asian J. Pharm. Sci.*, **9**(6), 304-316(2014).
- Pyo, S. H., Cho, J. S., Choi, H. J. and Han, B. H., "Preparation and Dissolution Profiles of the Amorphous, Dihydrated Crystalline, and Anhydrous Crystalline Forms of Paclitaxel," *Drying Technol.*, **25**(10), 1759-1767(2007).
- Karunanithi, A. T., Acquah, C., Achenie, L. E. K., Sithambaram, S. and Suib, S. L., "Solvent Design for Crystallization of Carboxylic Acids," *Comput. Chem. Eng.*, **33**(5), 1014-1021(2009).
- Liggins, R. T., Hunter, W. L. and Burt, H. M., "Solid-State Characterization of Paclitaxel," *J. Pharm. Sci.*, **86**(12), 1458-1463(1997).
- Lee, J. H., Gi, U. S., Kim, J. H., Kim, Y., Kim, S. H. and Oh, H. M., "Preparation and Characterization of Solvent Induced Dihydrated, Anhydrous, and Amorphous Paclitaxel," *Bull. Korean Chem. Soc.*, **22**(8), 925-928(2001).
- International Conference on Harmonisation, "Guidance Q3C Impurities: Residual Solvents," *Federal Register*, **62**, 67377-67388 (1997).
- Kim, J. H., Park, H. B., Gi, U. S., Kang, I. S., Choi, H. K. and Hong, S. S., "Removal of Residual Solvents in Paclitaxel by Supercritical Carbon Dioxide," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**(3), 233-236 (2001).
- Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Microwave-Assisted Drying of Paclitaxel for Removal of Residual Solvents," *Process Biochem.*, **48**(3), 545-550(2013).
- Drouzas, A. E., Tsami, E. and Saravacos, G. D., "Microwave/Vacuum Drying of Model Fruit Gels," *J. Food Eng.*, **39**, 117-122 (1999).
- Ha, G. S. and Kim, J. H., "Kinetic and Thermodynamic Characteristics of Ultrasound-Assisted Extraction for Recovery of Paclitaxel from Biomass," *Process Biochem.*, **51**(10), 1664-1673(2016).
- Gi, U. S., Min, B., Lee, J. H. and Kim, J. H., "Preparation and Characterization of Paclitaxel from Plant Cell Culture," *Korean J. Chem. Eng.*, **21**(4), 816-820(2004).
- Kawashima, Y. and York, P., "Drug Delivery Applications of Supercritical Fluid Technology," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 297-298 (2008).
- Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Decrease in the Particle Size of Paclitaxel by Increased Surface Area Fractional Precipitation," *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **40**(2), 169-174(2012).
- Lee, C. G. and Kim, J. H., "Improved Drying Method for Removal of Residual Solvents from Paclitaxel by Pre-Treatment with Ethanol and Water," *Process Biochem.*, **50**(6), 1031-1036(2015).
- 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**(12), 1985-1991(2004).
26. Diamante, L. M. and Munro, P. A., “Mathematical Modeling of the Thin Layer Solar Drying of Sweet Potato Slices,” *Sol. Eng.*, **51**(4), 271-276(1993).
27. Aregbesola, A., Ogunsina, B. S., Sofolahan, A. E. and Chime, N. N., “Mathematical Modeling of Thin Layer Drying Characteristics of *Dika (Irvingia Gabonensis)* Nuts and Kernels,” *Niger. Food J.*, **33**(1), 83-89(2015).
28. Page, G. E., “Factors Influencing the Maximum Rate of Air Drying Shelled Corn in Thin-Layers,” *M.S. Thesis*, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA(1949).
29. White, G. M., Loewer, T. C. and Ross, I. J., “Seed Coat Damage in Thin Layer Drying of Soybeans as Affected by Drying Conditions,” *Trans. ASAE*, **23**(1), 0224-0227(1978).
30. Henderson, S. M. and Pabis, S., “Grain Drying Theory I. Temperature Effect on Drying Coefficient,” *J. Agric. Eng. Res.*, **6**(3), 169-174 (1961).
31. Chinweuba, D. C., Nwakuba, R. N. and Okafor, V. C., “Thin Layer Drying Modelling for Some Selected Nigerian Produce: A Review,” *Am. J. Food. Sci. Nutr. Res.*, **3**(1), 1-15(2016).
32. Prasad, B. E. and Pandey, K. K., “Microwave Drying of Bamboo,” *Eur. J. Wood Prod.*, **70**, 353-355(2012).
33. Ozken, I. A., Akbudak, B. and Akbudak, N., “Microwave Drying Characteristics of Spinach,” *J. Food Eng.*, **78**(2), 577-583(2007).
34. Lee, H. and Han, C. S., “Drying and Quality Characteristics of Agricultural and Fishery Products Using far Infrared Rays,” *M.S. Thesis*, Chungbuk National University, Cheongju, Korea (2009).
35. Niladevi, K. M., Sukumaran, R. K., Jacob, N., Anisha, G. S. and Prema, P., “Optimization of Laccase Production from A Novel Strain-*Streptomyces Psammoticus* Using Response Surface Methodology,” *Microbiol. Res.* **164**(1), 105-113(2009).
36. Kim, H. S. and Kim, J. H., “Kinetics and Thermodynamics of Microwave-Assisted Drying of Paclitaxel for Removal of Residual Methylene Chloride,” *Process Biochem.*, **56**, 163-170(2017).
37. Babalis, S. J. and Belessiotis, V. G., “Influence of the Drying Conditions on the Drying Constants and Moisture Diffusivity During the Thin-Layer Drying of Figs,” *J. Food Eng.*, **65**(3), 449-458(2004).
38. Chowdhury, S., Mishra, R., Saha, P. and Kushwaha, P., “Adsorption Thermodynamics, Kinetics and Isotheric Heat of Adsorption of Malachite Green onto Chemically Modified Rich Husk,” *Desalination*, **265**, 159-168(2011).