



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0042113
(43) 공개일자 2009년04월29일

(51) Int. Cl.

C12P 7/62 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0108034

(22) 출원일자 2007년10월25일

심사청구일자 2007년10월25일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

강정원

서울 송파구 문정2동 웨미리아파트 210동 303호

권정훈

서울 관악구 봉천동 1699-5 백산연립 101호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이문섭

전체 청구항 수 : 총 7 항

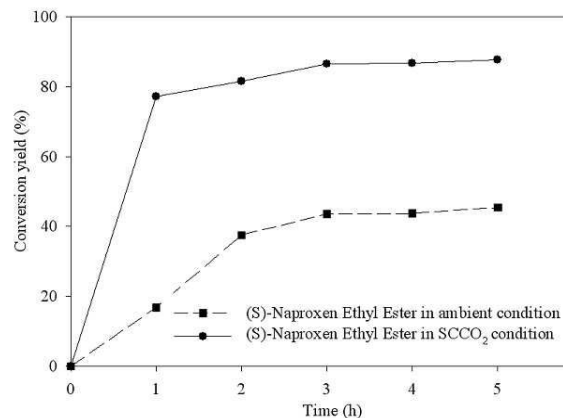
(54) 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법

(57) 요약

본 발명은 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 S-나프록센 나트륨염으로부터 라세믹 나프록센을 합성한 후, 합성된 라세믹 나프록센에 알코올과 이소옥탄(iso-octane)을 혼합한 다음, 리파아제와 함께 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서 에스테르화 반응을 수행하는 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법에 관한 것에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법에서 초임계 상태에서의 리파아제 효소반응에 필요한 최적의 온도와 압력조건을 확립하였으며, 이러한 방법으로 확립된 최적 조건을 에스나프록센 에틸 에스테르의 제조공정에 적용시켜 짧은 시간에 높은 전환율을 얻을 수 있음을 확인하였다. 특히 본 발명의 초임계 상태에서의 효소반응 공정의 전환율과 대기압 조건하에서의 전환율을 비교함으로써 본 발명의 뛰어난 수율을 확인하였다.

대표도 - 도10



(72) 발명자

김승욱

서울 노원구 공릉2동 737번지 삼익아파트 104동
905호

이중호

경기 용인시 수지구 풍덕천2동 신정마을주공아파트
905동1505호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2004-E-ID12-P-01-3-020-2004

부처명 에너지 관리공단

연구사업명 에너지 자원 기술개발(에너지 절약)

연구과제명 초임계유체 물성 데이터베이스 및 모델 개발

주관기관 청정화공시스템연구소

연구기간 2004년 01월 13일 ~ 2007년 09월 12일

특허청구의 범위

청구항 1

하기 단계를 포함하는 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법:

- 라세믹 나프록센에 물을 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시키는 단계;
- 상기 a)단계의 결과물에 에탄올과 이소옥탄(Iso-octane)을 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시키는 단계;
- 상기 b)단계의 결과물과 리파아제를 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서 에스테르화 반응을 수행하는 단계; 및
- 상기 c)단계의 결과물로부터 S-나프록센 에틸 에스테르를 분리하는 단계.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 a) 단계에서 첨가되는 물의 양은 상기 첨가되는 라세믹 나프록센, 에탄올 및 이소옥탄의 전체양에 대하여 1-3중량%인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 c) 단계에서 리파아제는 켄디다 안타티카 리파아제 B인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 상기 첨가되는 에스나프록센과 리파아제의 중량비는 1:1000 내지 1:1800인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 c) 단계에서 초임계 상태에서의 효소반응은 압력 75-175 bar, 온도 300-350 K 및 교반속도 100-200 rpm에서 반응시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 c) 단계에서 초임계 상태를 만들기 위한 유체는 초임계 이산화탄소인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 라세믹 나프록센은 S-나프록센 나트륨염(S-naproxen sodium salt)과 수산화나트륨(Sodium hydroxide)을 에틸렌글리콜 용액(Ethylene glycol solution)에 혼합한 후, 교반과 함께 가열하여 녹이는 단계; 상기 혼합용액을 상온에서 식힌 후, 산을 첨가하여 침전물을 형성시키는 단계; 상기 침전물을 필터로 여과한 후, 증류수로 세척하고 70-90℃에서 건조시키는 단계; 및 상기 건조물을 분쇄하여 라세믹 나프록센을 얻는 단계를 포함하는 방법으로 제조된 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 S-나프록센 나트륨염으로부터 라세믹 나프록센을 합성한 후, 합성된 라세믹 나프록센에 에탄올과 이소옥탄(iso-octane)을 혼합한 다음, 리파아제와 함께 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서 에스테르화 반응을 수행하는 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법에 관한 것에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 초임계유체란 "임계 온도와 압력 이상에서 있는 유체"로 정의되며 기존의 용매와 차별되는 독특한 특성을 갖고 있다. 일반적으로 용매의 물성은 분자의 종류와 분자 간 상호작용에 따라 결정되기 때문에 비압축성인 액체용매

는 분자간 거리가 거의 변화하지 않아 단일 용매로서는 커다란 물성의 변화를 기대하기 어렵지만, 초임계 상태에 처해있는 물질은 그 임계점 부근에서 압력을 변화시키면 밀도, 점도, 확산계수와 극성 등 많은 물성은 기체에 가까운 상태에서부터 액체에 가까운 상태에까지 연속적으로 매우 큰 변화를 가져온다.

<3> 초임계유체에서의 화학 반응 공정은 암모니아 합성 공정(BASF공장, 1913년 가동, N_2/H_2 혼합물 임계조건), 메탄올합성(BASF공장, 1923년 가동, $H_2/CO/CO_2$ 혼합물 초임계 조건), 수소생산(Shell & Texaco, 초임계수에서 연료의 부분산화반응), 고분자에틸렌 중합반응(초임계 에틸렌), 메탄올합성(천연가스의 초임계상태에서 hydration반응) 등이 초임계유체에서 또는 초임계유체가 반응물로서 응용되었다. Ethene, Propene, butene 등과 같은 light alkene의 수화반응 등도 alkene의 초임계상태에서 진행되어 Ethanol (Shell, BP, Erdol-Chemie, Hibernia-Chemie), isopropanol (ICI), 2-butanol (Idemitsu Petrochemical Co.) 등이 각각 공업적으로 생산되고 있다.

<4> 본 발명은 초임계 이산화탄소에서 온도 (325.15 K)와 압력 (130 bar)의 최적화 조건을 적용하여, 효소(리파아제)를 이용하여 라세믹 나프록센을 에스테르화 반응을 통해 효과적으로 (S)-form과 (R)-form으로 분리해 내는 공정이다. 본 발명에 의하면 최적의 효소반응 조건은 325.15 K의 온도와 130 bar의 압력, 그리고 7g의 엔자임, 2%의 물 등이다. 이러한 최적화된 조건을 이용하여, 라세믹 나프록센을 분리하였고, 상온 상압의 조건에서의 결과와 비교해 볼 때 매우 빠르게 반응이 일어나고 생산성이 증가함을 확인할 수 있었다. 라세믹 나프록센의 에스테르화 반응은 상온 상압 조건에서는 3시간 동안 43.6%의 전환율을 나타낸 반면, 초임계 이산화탄소를 이용하면 3시간 만에 86.6%의 전환율이 얻어지는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 리파아제를 이용한 초임계 상태에서의 라세믹 나프록센의 반응이 매우 빠르고 효과적이라는 것을 본 발명을 통해 알 수 있다.

<5> 초임계유체기술은 높은 용해력, 물질이동과 열의 이동이 빠르고, 낮은 점도, 높은 확산계수 그리고 낮은 표면장력으로 인한 미세공으로의 빠른 침투성 등과 같은 초임계유체의 장점을 이용한 기술로서, 기존의 반응 및 분해, 추출, 결정화, 흡수, 흡착, 건조, 세정 등의 공정에서의 저효율, 저품질, 저속, 환경에의 악영향 등과 같은 기술적 어려움을 해결할 수 있는 새로운 혁신기술로서 최근 많은 주목을 받고 있다.

<6> 나프록센은 류머티즘성 관절염이나 편두통 따위에 사용하는 소염 진통제로 잘 알려져 있는 의약품의 주원료이다. 유기용매를 이용한 나프록센 합성에 대한 연구는 과거에 수행되어진 바 있다. (Y.-m. Cui et al., 1997. Lipase-catalyzed esterification in organic solvent to resolve racemic naproxen. Biotechnol. Lett.19: 865-868) 그 결과에 의하면, 상온 상압 조건에서 유기용매를 이용할 경우, 11일 정도의 반응시간 동안 33.5%의 수율이 얻어지는 것으로 알려져 있다. 본 발명에서는 이러한 기존의 낮은 수율을 보이던 반응을 초임계 유체기술을 사용하여 수행함에 따라, 효소반응 시간의 단축과 함께 높은 수율을 얻어 라세믹 나프록센의 에스테르화 반응에 의해 (S)-나프록센 에틸 에스테르를 효과적으로 분리할 수 있었다.

<7> 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 초임계 상태에서 리파아제 효소에 의한 에스테르 반응을 이용하는 경우, 라세믹 나프록센으로부터 높은 수율로 S-나프록센 에틸 에스테르를 분리해 낼 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<8> 따라서, 본 발명의 주된 목적은 고수율의 에스테르화 반응을 유도하기 위하여 초임계 상태에서 리파아제 효소 반응을 이용하는 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

<9> 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리방법을 제공한다.

<10> a) 라세믹 나프록센에 물을 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시키는 단계;

<11> b) 상기 a)단계의 결과물에 에탄올과 이소옥탄(ISO-octane)을 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시키는 단계;

<12> c) 상기 b)단계의 결과물과 리파아제를 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서 에스테르화 반응을 수행하는 단계; 및

<13> d) 상기 c)단계의 결과물로부터 S-나프록센 에틸 에스테르를 분리하는 단계.

<14> 본 발명에서, 상기 라세믹 나프록센(racemic naproxen)은 광학이성질체인 R-나프록센과 S-나프록센이 혼합되어

있는 상태를 말하는 것으로, 본 발명에서는 S-나프록센 나트륨염으로부터 라세믹 나프록센을 합성하여 본 발명에 사용하였다. 그러나 원래의 나프록센은 라세믹 나프록센으로 존재하기 때문에, 본 발명의 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르를 분리하는 방법이 실제 산업에서는 더욱 유용한 기술이라 할 수 있다.

- <15> 본 발명의 분리방법에서, 상기 a) 단계에서 첨가되는 물의 양은 상기 첨가되는 라세믹 나프록센, 에탄올 및 이소옥탄의 전체양에 대하여 1-3중량%인 것을 특징으로 하는 방법인 것이 바람직하다.
- <16> 본 발명의 방법에서, 상기 c) 단계에서 리파아제는 라세믹 나프록센에 대하여 광학선택성이 있는 효소라면 특별히 제한을 두지 않으며, 리파아제, 에스테라이제 또는 프로테아제일 수 있으나, 바람직하게는 캔디다 안타티카 리파아제 B인 것을 특징으로 한다.
- <17> 본 발명의 방법에서, 상기 첨가되는 에스나프록센과 리파아제의 중량비는 1:1000 내지 1:1800인 것이 적당하며, 바람직하게는 1:1200 내지 1:1600인 것이 좋다.
- <18> 본 발명의 분리방법에서, 상기 c) 단계에서 초임계 상태에서의 효소반응은 압력 75-175 bar, 온도 300-350 K 및 교반속도 100-200 rpm에서 반응시키는 것이 적당한데, 에스테르화 반응 후 전환율과 상기 조건을 유지하기 위한 경제성을 고려하면 130 bar, 325,15 K 및 150 rpm에서 반응시키는 것이 바람직하다.
- <19> 본 발명의 분리방법에서, 상기 c) 단계에서 초임계 상태를 만들기 위한 유체는 초임계 상태로 효소반응 공정에 투입할 수 있는 어떠한 물질도 가능하나 바람직하게는 초임계 이산화탄소인 것을 특징으로 한다.
- <20> 본 발명에서와 같이, 초임계 이산화탄소를 이용하면 높은 용해력, 빠른 물질 전달과 열전달, 낮은 점도, 높은 확산계수 그리고 낮은 표면장력으로 인해 반응속도를 빠르게 증가시킬 수 있어 대기압 상태에서의 라세믹 에스나프록센의 에스테르화 반응의 단점인 느린 반응속도의 단점을 보완할 수 있다. 이와 더불어 초임계 상태에서 반응을 수행함으로써 고수율의 에스테르화 반응을 수행할 수 있다.
- <21> 실제로, 종래에는 상온 상압에서 라세믹으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르를 분리해 내는데 11일 이상이 걸린 것으로 알려져 있고, 그 때의 전환율 또한 33.5 %로 아주 낮은 전환율을 나타낸 반면 [Cui, Y.-m., et al., 1997. Lipase-catalyzed esterification in organic solvent to resolve racemic naproxen. Biotechnol. Lett.19: 865-868] 본 발명에서는 초임계 상태에서의 효소반응을 이용하여 이러한 기존의 반응시간을 단축함과 동시에 80%이상의 높은 수율로 에스나프록센 에틸 에스테르를 얻을 수 있음을 입증하였다.
- <22> 본 발명의 분리방법에서, 상기 라세믹 나프록센은 S-나프록센 나트륨염(S-naproxen sodium salt)과 수산화나트륨(Sodium hydroxide)을 에틸렌글리콜 용액(Ethylene glycol solution)에 혼합한 후, 교반과 함께 가열하여 녹이는 단계; 상기 혼합용액을 상온에서 식힌 후, 산을 첨가하여 침전물을 형성시키는 단계; 상기 침전물을 필터로 여과한 후, 증류수로 세척하고 70-90℃에서 건조시키는 단계; 및 상기 건조물을 분쇄하여 라세믹 나프록센을 얻는 단계를 포함하는 방법으로 제조된 것을 특징으로 한다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <23> 이하, 본 발명을 단계별로 보다 구체적으로 설명한다.
- <24> 본 발명의 초임계 상태에서 리파아제를 이용하여 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에스테르를 제조하는 방법은,
- <25> 상기 라세믹 나프록센에 물을 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시키는 단계,
- <26> 상기 물에 분산된 라세믹 나프록센에 에탄올과 이소옥탄(Iso-octane)을 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시키는 단계, 및
- <27> 상기 결과물과 리파아제를 반응 셀에 넣고 초임계 상태에서의 효소반응을 이용하여 에스테르화를 수행하는 단계를 수행함으로써 완성될 수 있다.
- <28> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.
- <29> **제조예 1. 라세믹 나프록센의 합성**
- <30> 라세믹 나프록센(racemic naproxen)을 합성하기 위하여 S-나프록센 나트륨염(S-naproxen sodium salt, Sigma) 25 g과 수산화나트륨(NaOH) 16 g을 에틸렌 글리콜(ethylene glycol, Fluka) 150 ml에 녹인 후, 교반과 함께 1

시간 동안 끓였다. 생성물을 상온에서 식힌 후, 1 N 염산(HCl)을 첨가하면 생성물은 용해되면서 백색 침전물이 형성된다. 이 침전물을 Whatman GF/C filter로 여과한 후, 3차 증류수로 세척하였다. 건조는 80℃ Dry oven에서 실시하였고, 막자사발을 이용한 분쇄에 의해 라세믹 나프록센을 얻었다. 여기서 얻은 라세믹 나프록센을 HPLC로 분석한 결과, 두 개의 피크(peak)를 확인하였고, R-나프록센(R-naproxen)이 약 1.4분 빨리 용출됨을 확인하였다(도 1).

<31> **제조예 2. 초임계 상태에서 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리**

<32> S-나프록센 에틸 에스테르를 합성하기 위한 초임계 효소반응의 실험 장치는 도 2에 나타내었다. 켄디다 안타티카 리파아제에 의한 효소반응은 온도(303.15 K ~ 343.15 K)와 압력(25 bar ~ 175 bar)의 조건을 변화시켜 가면서 5시간 동안 수행되었으며, 이 때 교반속도는 150 rpm에서 반응시켰다.

<33> 구체적인 제조과정은 다음과 같다. 우선 비커에 0.2mM의 라세믹 나프록센(제조예 1에서 제조된: 0.0054g)과 소량의 물을 넣고, 20분 동안 물의 확산을 돕기 위해 1차로 초음파 상태에서 분산시킨다. 그 후, 이소옥탄(isooctane)과 에탄올(ethanol)을 넣고 20분 동안 2차로 초음파 상태에서 분산시킨다. 여기서, 물과 에탄올의 부피비는 94:6 (물 1.879ml와 에탄올 29.436ml)으로 하고, 이소옥탄과 에탄올의 부피비는 7:3으로 한다. 초임계 상태에서의 과정은 고압 셀[도 2의 (11)]에서 진행하였으며, 반응을 시작하기 직전 7g의 켄디다 안타티카 리파아제(candida antarctica lipase, NOVO Nordisk, Denmark)를 도 2에 제시된 초임계 이산화탄소 반응 셀에 넣어준 후, 리파아제 효소에 의한 에스테르화 반응을 수행한다.

<34> **실험예 1. 최종 생성물의 분석**

<35> 제조예 1에서 수행한 에스테르화 반응의 결과로 얻어진 생산물을 시간별로 샘플링 파트인 도 2의 (10)을 통해 채취하였다. 샘플은 HPLC(Young-lin Instrument co. ltd, Korea)로 분석하였고, 이 때 사용된 컬럼은 카탈셀(chiralcel) OD 컬럼이다. 분석은 다음과 같은 조건에서 수행하였다. UV 디텍터의 파장은 254 nm이고, 이동상은 유속은 1.0 mL/min에서 볼륨비로 n-헥산(n-hexane): 2-프로판올(2-propanol): 아세트릭 엑시드(acetic acid)를 97:3:1로 만들어 사용하였다. S-나프록센 에틸 에스테르의 표준 물질(standard)은 333.15 K에서 15분 동안 에탄올 안에 10%의 보론 트리플루오라이드가 포함되어 있는 시약(10% boron trifluoride in ethanol) 2 mL를 추가하여 각 농도별로 에틸화(ethylation)한 후 분석하여 사용하였다.

<36> 초임계 상태에서 5시간 동안 323.15 K의 온도와 125 bar의 압력에서 라세믹 나프록센의 에스테르화 반응을 수행한 결과, 다량의 S-나프록센 에틸 에스테르와 소량의 R-나프록센 에틸 에스테르가 생성되었고, 시간이 지남에 따라 전환율도 같이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 최종 생성물인 S-나프록센 에틸 에스테르는 단지 3시간 만에 60 ~ 80%의 전환율을 얻을 수 있었다. 본 실험결과에는 도 8의 그래프에 나타내었다.

<37> **실험예 2. 온도와 압력에 따른 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율**

<38> 초임계 반응에서 온도와 압력은 중요한 공정변수들이다. 이러한 파라미터를 바꿔줌에 따라 반응이 일어나는 정도를 향상시킬 수 있다. 왜냐하면 이산화탄소의 유전상수(dielectric constant)는 초임계 상태에서 급격하게 변화하여 이 특성을 이용하면, 어느 정도의 물성변화를 기대해 볼 수 있기 때문이다.

<39> 본 발명자들은 본 발명에서 목적으로 하는 S-나프록센 에틸 에스테르를 분리해 내기 위한 최적 조건은 라세믹 나프록센에 포함되어 있는 S-나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율을 측정함으로써 최적 조건을 찾아내고자 하였다. 여기서 찾아낸 최적 조건을 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센 에틸 에스테르로 전환시키는 데 적용시켰다. 구체적으로는 다음과 같다.

<40> 우선 온도에 의한 영향을 알아보기 위해, 일정한 압력(125 bar)에서 온도를 303.15 K ~ 333.15 K까지 변화시켜 가면서 전환율에 어떠한 영향이 있는지 알아보았다. 그 결과, 도 3의 그래프에서 볼 수 있듯이 온도가 올라갈수록 높은 전환율을 보이지만, 어느 정도 이상으로 온도범위를 넘어서게 되면(333.15 K의 경우), 전환율이 급격히 감소하는 현상을 확인할 수 있다. 따라서 323.15 K와 333.15 K의 온도조건 사이에서 최적의 온도조건이 있을 거라 예측할 수 있다.

<41> 또한, 압력에 의한 영향을 알아보기 위해, 일정한 온도(323.15 K)에서 압력을 25 bar ~ 175 bar로 변화시켜 가면서 전환율에 어떠한 영향이 있는지 알아보았다. 그 결과, 도 4의 그래프에서 볼 수 있듯이, 100 bar 이상의 압력에서는 전환율이 어느 정도 안정된 결과를 나타내는 반면, 임계 조건(304.15 K, 73.8 bar) 이하의 압력 25 bar에서의 결과를 보면, 상대적으로 아주 낮은 전환율을 보였다. 그러나 125 bar 이상에서는 압력에 대한 영향력은 줄어드는 것도 그래프를 통해 확인할 수 있다.

<42> **실험 예 3. 효소의 양에 따른 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율**

<43> 본 발명의 내용에 추가하여, 다른 조건들을 변화시키면서 최적의 조건을 확립해보았다. 효소(enzyme)의 양은 효소반응에서 온도, 압력과 함께 촉매반응에 영향을 주는 중요한 변수로 작용한다. 우선 반응에 들어가는 효소(enzyme)인 리파아제의 양을 1g ~ 7g까지 변화시켜 가면서 각각의 전환율을 얻어 보았고, 그 결과는 도 5에 나타내었다. 효소의 양이 증가하면 증가할수록 반응의 전환율도 함께 증가하는 결과를 보였다. 효소의 양이 1g이나 3g일 때 보다 5g, 7g일 때 훨씬 더 높은 전환율이 나타남을 확인할 수 있다. 또한, 도 6에서 평균 전환율로 비교해 보면, 효소의 양을 1g ~ 11g까지 변화시키면서 비교한 결과, 전환율은 각각 10.0, 36.8, 66.3, 78.3, 82.3 및 83.1%의 결과를 나타내었다. 이러한 결과로 예측해 볼 때, 초임계 상태의 효소반응에서 효소의 양은 7g 정도가 적합하다는 것을 알 수 있었다.

<44> **실험 예 4. 물의 양에 따른 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율**

<45> 효소반응에서 반응 온도와 압력, 효소의 양과 함께, 물은 없어서는 안 될 중요한 성분 중 하나이다. 왜냐하면 물이 효소와 활성화 부위(active site)의 결합에 직접적으로 또는 간접적으로 도와주는 중요한 역할을 하기 때문이다. 몇몇 연구자들은 물의 양이 0.2 ~ 3%내일 때 가장 적합하다고 보고했던 바 있다 (M. Iso et al., 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. J. Mol. Catal. B-Enzym. 16: 53-58.). 본 발명에서는 물의 양을 1 ~ 5%까지 변화시켜 가면서 그 때의 전환율을 알아보았다. 그 결과는 도 7에 나타내었다. 그 결과에 따르면, 1 ~ 5% 내에서 전환율에는 큰 변화를 보이지 않았다. 그러나 물의 양이 1 ~ 3%의 조건일 때의 전환율이 4 ~ 5%일 때의 전환율보다 약간 더 높음을 그래프를 통해 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 비추어 볼 때 최적의 물의 양의 조건은 2%라고 예측할 수 있었다.

<46> **비교예 1. 대기압 조건과 초임계 최적 조건에서의 생산성 비교실험**

<47> 도 8, 9에서 보는 바와 같이, 대기압 조건에서는 48시간 동안 수행한 결과, S-나프록센 에틸 에스테르는 43.6%의 낮은 전환율을 나타내었다(도 9). 그에 비해 초임계 상태에서 최적화된 온도와 압력 조건(325.15 K, 130 bar)에서 실험을 수행한 결과에 따르면, S-나프록센 에틸 에스테르는 3시간 만에 86.6%의 높은 전환율을 보임을 확인할 수 있었다(도 8). 따라서 본 발명은 일반 대기압 조건에서 효소반응을 수행하는 것과 비교해 볼 때, 초임계 상태에서 수행했을 경우 높은 수율을 얻을 수 있는 효과적인 공정이라 설명할 수 있다.

<48>

<49> **실험 예 5. 초임계 이산화탄소에서 라세믹 (racemic) 나프록센의 에스테르화 반응**

<50> 본 발명에서 최적화한 모든 변수들, 온도(325.15 K), 압력(130 bar), 150rpm의 교반 속도, 효소의 양 7g 및 물 2%를 적용시켜 초임계 조건 하에서 5시간 동안 라세믹 나프록센의 에스테르화 반응을 수행하였다. 그 결과는 도 8에 나타내었다. 결과에 따르면, S-나프록센 에틸 에스테르와 R-나프록센 에틸 에스테르는 초임계 상태에서 각각 86.6%와 17.3%의 높은 전환율을 보였다. 상온, 상압 상태와 비교해 본 결과는 도 10에 나타내었다. 도 9에서, 323.15 K의 온도와 대기압 조건에서 라세믹 나프록센의 분리에 의해 얻어진 S-나프록센 에틸 에스테르와 R-나프록센 에틸 에스테르는 각각 43.6%와 6.4%의 결과를 보였다. 결과적으로, 초임계 상태와 대기압 상태에서 얻어진 S-나프록센 에틸 에스테르의 시간에 따른 전환율을 비교해 보면, 초임계 상태에서의 전환율이 86.6%로 대기압 상태에서의 43.6%보다 훨씬 높은 수율을 보임을 도 10에서 확인할 수 있었다.

산업이용 가능성

<51> 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 라세믹 나프록센으로부터 S-나프록센을 분리방법에서 초임계 효소반응에 필요한 최적의 온도와 압력조건을 확립할 수 있으며, 이러한 방법으로 확립된 최적 조건을 분리공정에 적용시켜 짧은 시간에 높은 전환율을 얻을 수 있음을 확인하였다. 특히 본 발명의 초임계 상태에서의 효소반응 공정의 전환율과 대기압 조건하에서의 전환율을 비교함으로써 본 발명의 뛰어난 수율을 확인하였다. 따라서 본 발명은 상온, 상압 조건에서 낮은 수율을 보이는 S-나프록센 에틸 에스테르의 분리공정의 단점을 보완하여 단 시간동안 생산성을 최대로 증가시킬 수 있는 방법으로서 매우 유용할 것이다.

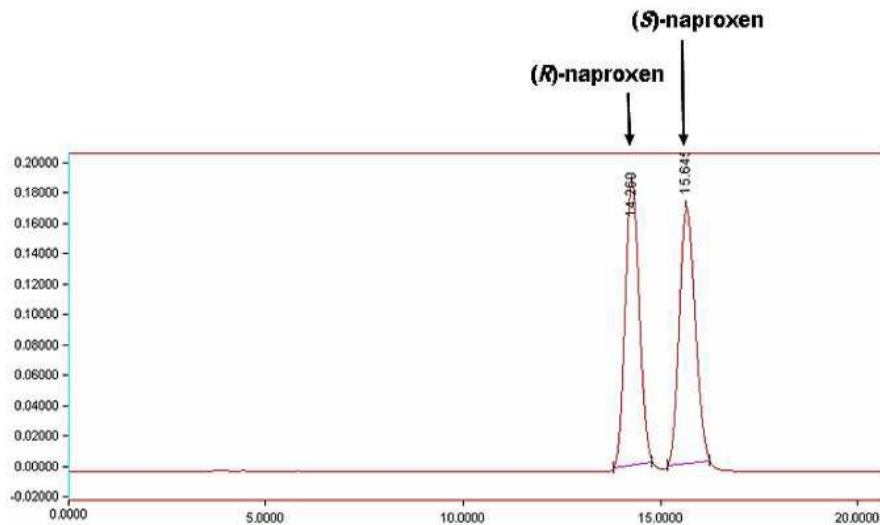
도면의 간단한 설명

<52> 도 1은 초임계 상태에서 리파아제에 의한 라세믹 나프록센의 에스테르화 반응에 대한 모식도이다: SCC02는 초임계 이산화탄소, CALB는 켄디다 안타티카 리파아제 B).

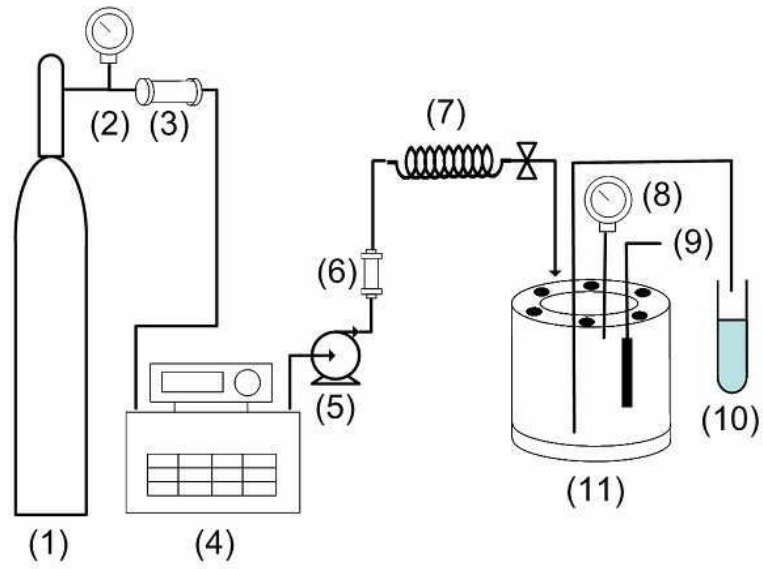
- <53> 도 2는 초임계 이산화탄소를 이용해 켄디다 안타티카 리파아제에 의한 에스테르화 반응을 수행할 수 있는 실험 장치이다: (1) 이산화탄소 실린더; (2) 압력게이지; (3) 필터; (4) 칠러 냉각기; (5) 고압 펌프; (6) 체크밸브 (Check valve); (7) 프리히터(Pre-Heater); (8) 압력계; (9) 온도계; (10) 샘플 채취파트; 및 (11) 교반 가능한 고압 반응기.
- <54> 도 3는 일정 압력(125 bar)에서 온도만을 변화시키면서 (303.15 K ~ 333.15 K), S-나프록센 에틸 에스테르의 시간에 따른 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <55> 도 4는 일정 온도(323.15 K)에서 압력만을 변화시키면서 (25 bar ~ 175 bar), S-나프록센 에틸 에스테르의 시간에 따른 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <56> 도 5는 효소의 양에 따른 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율을 나타낸 그래프이다.
- <57> 도 6은 효소의 양에 따른 S-나프록센 에틸 에스테르의 평균 전환율을 나타낸 그래프이다.
- <58> 도 7은 물의 양에 따른 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율을 나타낸 그래프이다.
- <59> 도 8은 본 발명에 따른 초임계 상태에서의 S- 및 R-나프록센 에틸 에스테르의 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <60> 도 9는 본 발명에 따른 상온상압 상태에서의 S- 및 R-나프록센 에틸 에스테르의 전환율을 나타내는 그래프이다.
- <61> 도 10은 본 발명에 따른 초임계 상태와 상온상압 상태에서의 S-나프록센 에틸 에스테르의 전환율을 비교한 그래프이다.

도면

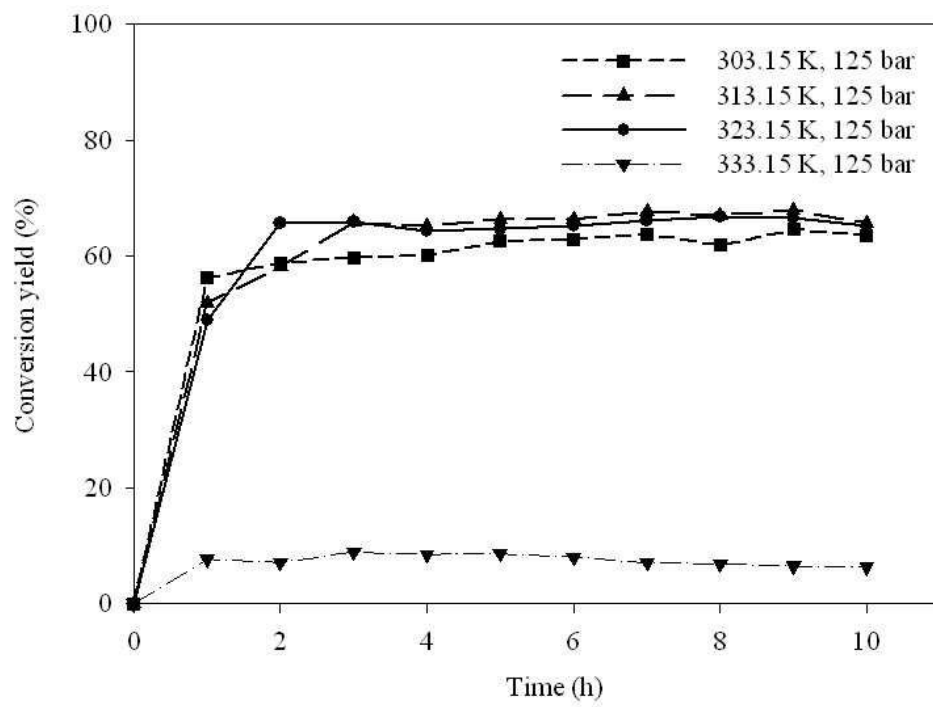
도면1



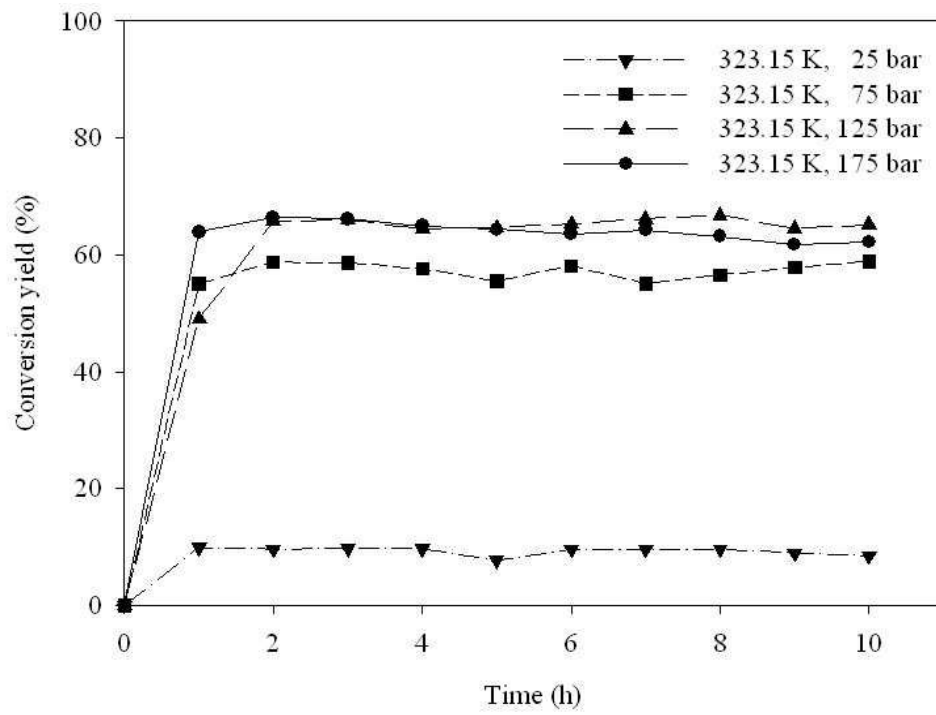
도면2



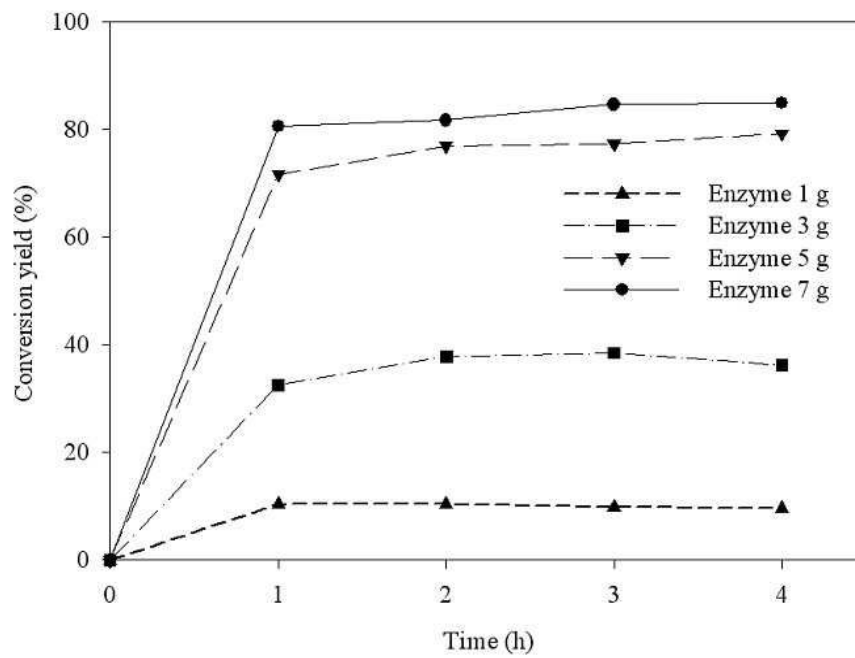
도면3



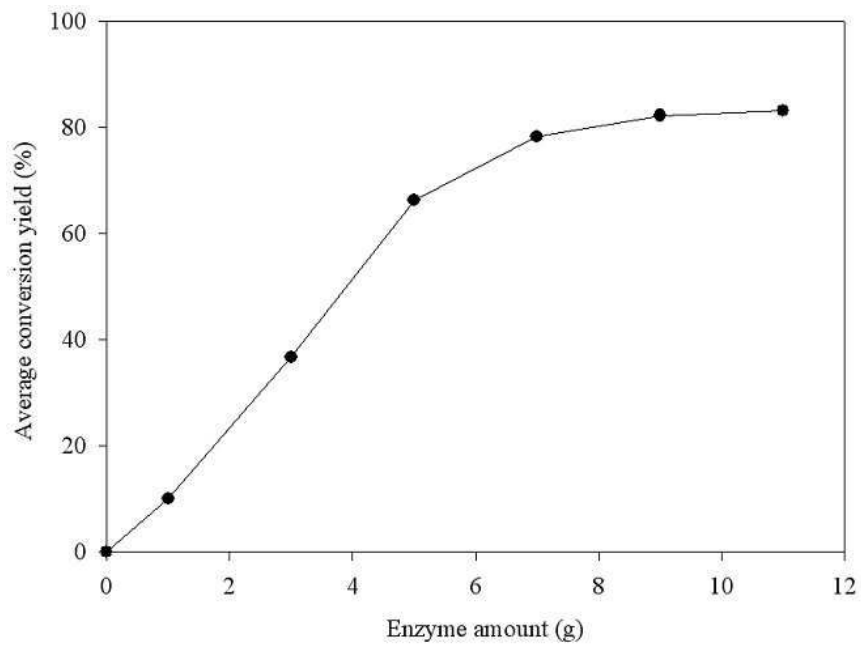
도면4



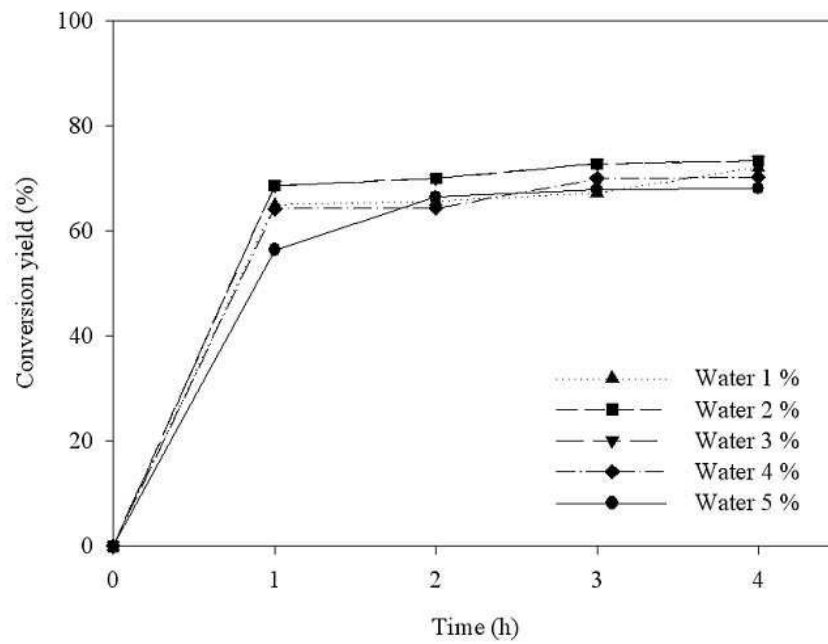
도면5



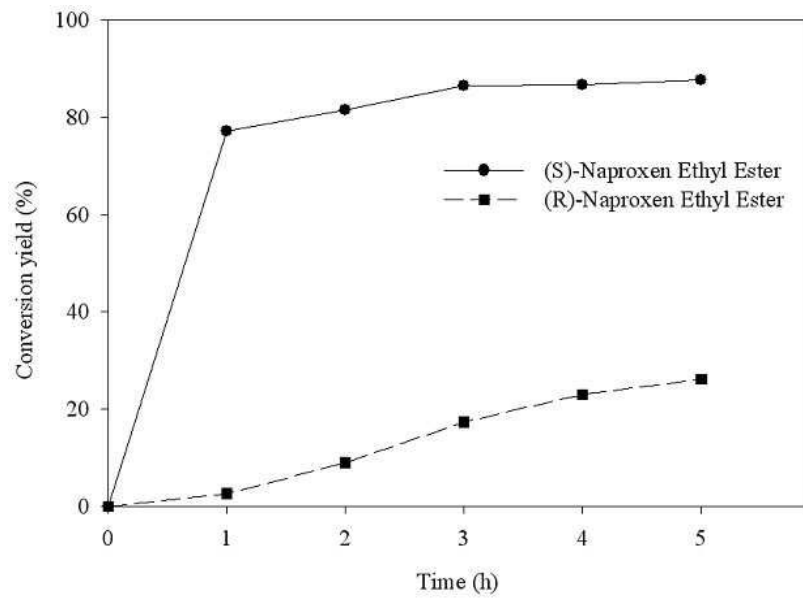
도면6



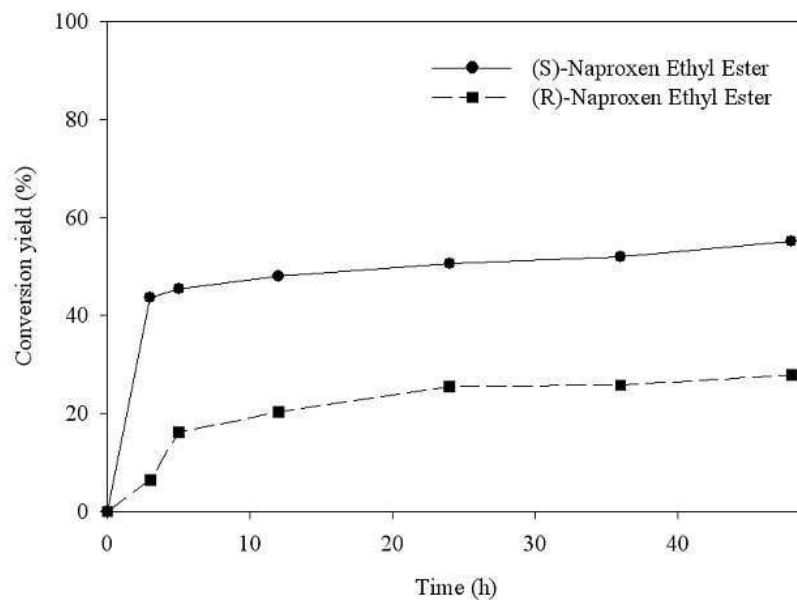
도면7



도면8



도면9



도면10

