

초임계 반응매 공정을 이용한 Dextran 입자 제조

민병준¹, 노선균^{2*}, 김태영², 조성용^{1,2}, 김승재^{1,2}, 강준형³¹전남대학교 환경공학과, ²BK21친환경핵심소재및공정개발팀, ³응용화학공학부

(skno420@naver.com*)

Preparation of Dextran Particles using Supercritical Anti-Solvent Process

Byoung Jun Min¹, Seon Gyun Rho^{2*}, Tae Young Kim², Sung Yong Cho^{1,2}, Seung Jai Kim^{1,2}
and Choon Hyoung Kang³¹Department of Environmental Engineering, ²BK21 Development of Environmentally friendly
core materials and processes, ³Department of Applied Chemical Engineering,

Chonnam National University

(skno420@naver.com*)

서론

오늘날 식품, 고분자, 정밀 화학 산업, 재료분야, 의약 등에서 사용되는 핵심 기술 중의 하나는 입자 크기 및 분포를 균일하게 제조하는 기술이다. 특히 지능형 나노 약물전달시스템(DDS, Drug Delivery System)은 약물 혹은 용해되기 어려운 분자를 선택적으로 작용하도록 하여 부작용을 줄이고 약물의 효과를 극대화하는 신기술로 새로운 방식의 치료학이다. Dextran은 친수성, 무독성, 생화학적 친화성을 이유로 의약품이나 식품산업 등에 활용되어지고 있으며 인체와 잘 조화를 이루는 고분자이다[1]. 이러한 이유로 약물전달 시스템에서 매우 중요한 물질이며 자주 응용되어 진다. 그러나 효과적으로 약물을 전달하기 위해서는 입자의 크기 및 분포를 조절하여 제조하는 기술이 필수적이다.

최근 약물전달시스템에서 각광받는 입자 제조방법중의 하나는 초임계 유체를 이용하여 입자를 제조하는 방법이다[2]. 초임계 유체를 이용하는 기술이 분쇄법, 동결건조, 역미셀법 등에 비해 주목을 받는 이유는 잔존 용매의 문제를 해결하고 초임계 CO₂와 같이 인체에 무해하고 환경오염에 미치는 영향이 적은 용매를 이용하면 무독성, 환경 친화적 공정개발이 가능할 수 있다는 점이다.

현재까지 초임계 유체를 용매, 반응매 또는 반응물로 이용하여 미세입자를 제조하는 많은 공정이 개발되어지고 있다. 그중 SAS (Supercritical Anti-Solvent) 공정은 입자를 제조할 용질이 초임계 유체에 대한 용해도가 매우 낮을 경우, 용질을 적절한 용매에 녹인 후 이를 반응매에 해당하는 초임계 유체와 혼합 함으로서 용매의 용해력을 급격히 저하시켜 용액 중의 용질을 석출시키는 원리를 이용한 재결정화 공정이다. 반응매인 초임계 유체와 용매와의 물질전달속도는 두 물질의 확산속도에 비례하기 때문에 SAS공정에서는 액상공정에 비하여 매우 빠른 물질전달이 일어나 급격한 과포화 및 핵 생성이 이루어져 매우 작은 입자를 얻을 수 있다[3].

본 연구에서는 SAS 공정의 일반적인 제조 주요 변수인 온도, 압력, 용액의 농도 및 용액의 주입속도에 대한 입자제조의 영향을 파악하고 더 나아가 dextran의 분자량 변화에 따른 입자의 영향을 파악함으로써 우리가 원하는 입자크기와 분포를 자유롭게 조절하여 약물전달시스템에 더 효과적인 기여를 할 수 있는데 있다.

실험

시약 및 재료

SAS(Supercritical Antisolvent) 공정을 이용하여 dextran 입자를 제조하기 위하여 사용된 시약은 dimethyl sulfoxide(DMSO), dextran, CO₂ 이다. Dextran을 용해하기

위하여 사용된 DMSO(Lot# 610C1066, 99.0%)는 Kanto Chemical co.에서 구입한 특급 시약을 사용하였으며 dextran은 SIGMA Chemical사에서 공급 받아 사용하였고 평균 분자량 37,500(Lot# 18H0568)과 평균분자량 400,000~500,000(Lot# 115K1147)인 것을 사용하였다. 초임계 유체로는 CO₂(99.99%, 대창가스)를 냉각하여 액체 상태를 유지한 후 액체 펌프를 사용하여 초임계 압력을 유지하여 사용하였다.

수분함량은 초임계 유체인 CO₂에 영향을 미쳐 입자를 만드는데 방해요인으로 작용한다. 수분함량은 Denver Instrument의 Coulometric KF(karl fischer) Titrator를 이용하여 수분함량을 측정하였다. Dextran-DMSO의 수분함량은 0.17~0.20%H₂O를 나타내었고 DMSO 시약의 수분 허용 최대값인 0.2% 이하인 값을 얻어서 더 이상 정제과정 없이 사용하였다.

실험장치 및 방법

제조된 dextran 용액으로부터 dextran입자의 재결정을 얻기 위해서 SAS법을 사용하였다. Dextran 재결정을 위한 SAS 공정을 Fig. 1.에 도시하였다. 초임계 유체 CO₂는 액체 펌프(Supercritical 24, LabAlliance inc.)를 사용하여 공급하였다. 액체 펌프를 사용하여 CO₂를 재결정실로 보내기 전 재순환 냉각장치(MC-11, JEIO TECH)을 사용하여 액체 상태를 유지한 후 공급하였다. CO₂를 재결정실로 공급한 후 입자를 제조할 조건인 압력을 Fig. 1의 압력조절밸브 (6000psi, TESCOM)를 사용하여 조절하였다. 재결정실의 온도는 Air Oven(OF-12, JEIO TECH)을 통해 조절하였으며 실험조건이 충족되면 용액이 연결되어 있는 고압 액체 펌프(MMP-SS-20-D, IlShin autoclave)를 사용하여 재결정실내로 용액을 주입하였다. 재결정실에 공급된 용액은 초임계 유체에 의해 입자가 생성되고 생성된 입자는 filter에 의해 수집하였다. 특히 DMSO가 재결정화된 dextran 입자를 용해 할 수 있으므로 CO₂에 DMSO가 충분히 녹아 제거될 수 있도록 약 90분 이상 초임계 CO₂를 흘려보냈다. 충분한 시간이 경과한 후에는 초임계 CO₂의 공급을 멈추고 압력조절밸브를 천천히 조작하면서 감압하였다. 제조된 입자는 여과기의 membrane filter(0.45 μ m PTFE, Advantec MFS, Inc.)와 membrane filter(0.2 μ m PTFE, Whatman)에서 채취하여 시약병에 담아 공기중의 수분과 접촉을 최대한 피하기 위하여 Silicagel 병에 이중으로 보관하였다.

이때 실험은 초임계 장치를 이용한 입자 제조의 조절변수에 대한 영향을 관찰하기 위하여 온도, 압력, 용액 농도 및 용액 주입속도, 용질의 분자량 변화에 대해 각각 실험하였다.

결과 및 토론

온도의 변화에 따른 입자 제조는 온도가 313.15K 일 때 가장 작고 크기가 균일한 입자가 만들어 짐을 알 수 있었다. 이에 반해 온도가 308.15K 일 때는 313.15K 보다 더 큰 입자가 생성됨을 알 수 있었으며 입자 크기 분포 또한 더 넓게 분포함을 알 수 있었다. 온도가 318.15K 와 323.15K 의 경우는 313.15K 의 경우보다는 좀 더 큰 입자들이 만들어 짐을 알 수 있었다. 이는 일반적으로 온도가 증가함에 따라 확산 속도가 증가하게 되고 용액에 녹아있는 dextran 또한 상호 인력이 감소하게 되어 더 작은 입자를 제조할 수 있다. 그러나 초임계 유체의 조건에서는 318.15K 이상의 온도에서는 초임계유체에 녹아드는 DMSO의 속도가 dextran 상호간의 인력에 비해 상대적으로 줄어들어 더 큰 입자를 제조될 수 있음을 확인 하였다. 또한 온도가 333.15K 에서는 용액을 주입할 때 덩어리지면서 분사됨을 보였고 이런 입자들의 응집현상으로 더 이상의 높은 온도에서는 실험을 할 수 없었다. 이는 초임계 유체 공정을 이용하여 입자를 제조할 때 온도가 입자 크기의 조절변수임을 알 수 있는 결과이다.

압력의 변화에 따른 입자 제조는 압력이 90bar인 경우가 가장 작은 입자를 형성함을

볼 수 있었으며 110bar와 130bar에서는 거의 비슷한 입자크기를 나타냄을 알 수 있었다. 그러나 입자들의 분포는 110bar인 경우가 가장 또렷한 입자들을 형성한 반면에 90bar와 130bar인 경우는 입자들이 엉켜있음을 알 수 있었다. 이는 dextran 입자들은 공기 중의 수분에 대하여 쉽게 엉김현상을 일으킬 수 있으며 입자가 작을수록 빠른 엉김현상을 보여주고 있기 때문이다. 압력이 증가함에 따라 dextran 용액이 초임계유체에서 상대적으로 느린 확산을 보이며 상호 인력 또한 증가하여 낮은 압력에 비해 상대적으로 큰 입자가 제조됨을 알 수 있다. 이는 압력 역시 입자 제조에 중요한 공정변수임을 알 수 있었다.

용질농도에 대해서는 농도가 5mg/ml의 낮은 농도에서는 입자들이 잘 형성되지 않음을 보였다. 그러나 농도가 증가함에 따라 dextran 입자들이 잘 형성됨을 알 수 있었다. 특히 10mg/ml의 농도에서는 가장 작은 입자가 형성됨을 알 수 있다. 그리고 용질 농도가 15mg/ml와 20mg/ml에서는 10mg/ml 농도보다도 더 큰 입자가 만들어 짐을 알 수 있었다. 이것은 같은 주입시간에서 농도가 커짐으로써 분산이 되어있던 용질이 상호 응집할 기회를 많이 가짐으로써 입자의 크기가 상대적으로 증가하는 것으로 판단되어 진다. 그러나 너무 낮은 농도에서는 입자들의 상호 분산 현상이 줄어들어 입자를 형성하지 못하고 덩어리지는 현상을 보였으며 5mg/ml 이하의 낮은 농도에서는 입자를 제조하지 못함을 알 수 있었다.

Dextran 용액의 주입속도 변화에 따른 입자제조시 주입속도는 5.3ml/min, 8.8ml/min, 11.6ml/min, 15.2ml/min으로 변화하면서 실험하였다. 모두 1 μ m 이하의 작은 입자들이 제조됨을 알 수 있었다. 그러나 주입속도에 따른 입자들의 크기는 큰 변화를 보이지는 않았다. 이는 dextran 용액의 SAS공정의 결정실 내에 주입되는 속도는 입자제조의 크기나 균일성에 매우 작은 영향을 미치는 변수임을 알 수 있었다.

Dextran 분자량 변화에 따라 제조된 입자의 크기는 약 100 nm의 매우 작은 입자가 제조되어 FE-SEM을 이용하여 크기를 분석하였다. Fig. 2.는 압력 변화에 따른 Dextran 400,000~ 500,000의 FE-SEM 사진을 그림으로 나타내었다. 고분자량의 dextran의 경우 dextran 37,500의 경우와 마찬가지로 압력이 증가함에 따라 입자 크기가 증가함을 나타내었다. 그러나 그 크기는 상대적으로 적게 증가하였다. 또한 입자 모양은 구형의 입자보다는 막대 형상을 많이 나타내었다. 이는 고분자 dextran의 경우 고분자 사슬의 chain이 dextran 37,500의 경우보다 길어져 제조된 입자가 구형을 보이지 못하는 이유이다. 고분자량의 dextran인 경우 구형의 입자를 제조하기에는 불리한 여건임을 알 수 있었다. 또한 용액의 농도가 15mg/ml에서는 입자 결정실에서 겔형태의 덩어리 형상을 보여 입자를 제조할 수 없었다. 이는 고분자의 농도가 증가할 경우 분자간의 상호 인력이 저분자에 비해 증가하여 분산에 의한 입자 형성을 방해하기 때문으로 추측할 수 있다.

참고문헌

- [1] D. Z. Icoz, C. I. Moraru, J. L. Kokini, "Polymer-polymer interactions in dextran systems using thermal analysis", *Carbohydrate Polymers*, **62**(2), 120~129(2005)
- [2] Patrick J. Ginty, Martin J. Whitaker, Kevin M. Shakesheff and Steven M. Howdle, "Drug delivery goes supercritical", *Materials Today*, **8**(8), 42-48 (2005)
- [3] Masoud, B., Sima, R., "Production of micro- and nano-composite particles by supercritical carbon dioxide", *J. of Supercritical Fluids*, **40**, 263~283(2007)

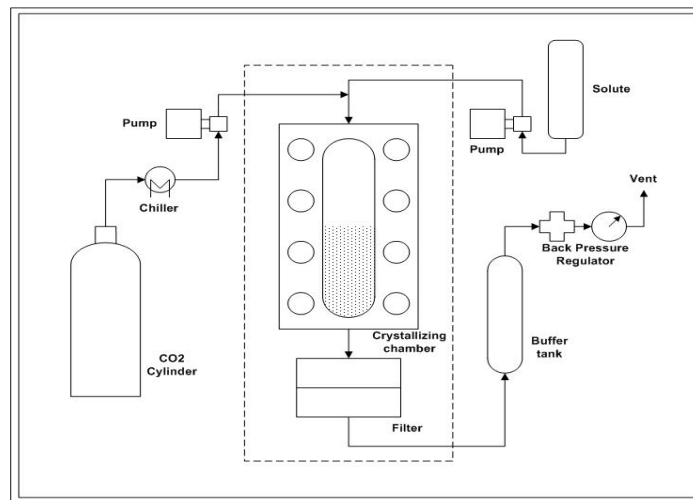
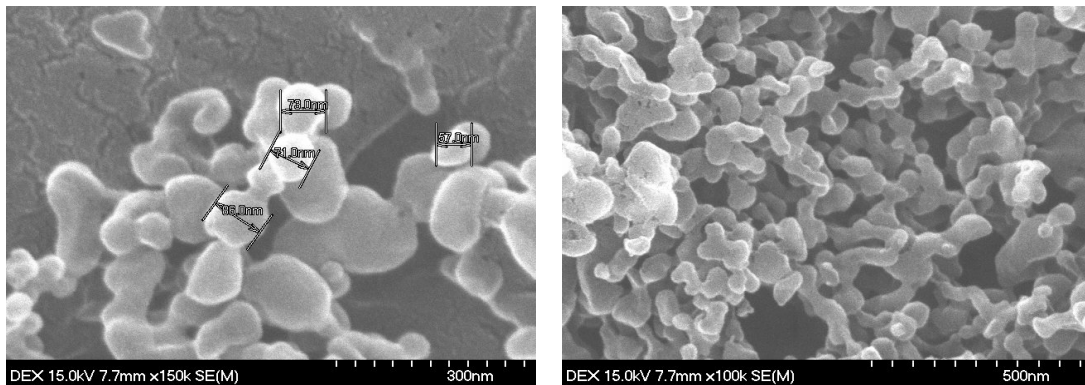
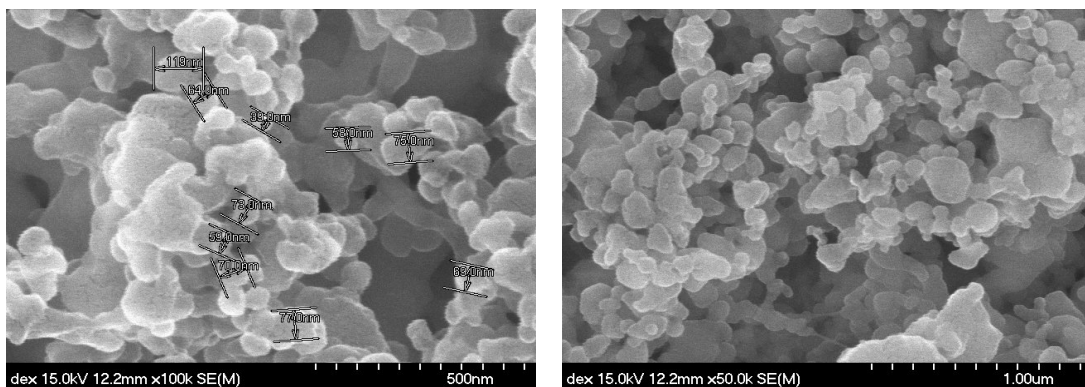


Fig. 1. The experimental apparatus used for the SAS process



(a) 90bar



(b) 110bar

Fig. 2. SEM images of particle at 318.15K, 5mg/ml and 12.6ml/min for Dextran(400,000~500,000)
(a) 90bar (b) 110bar