

## 초임계 이산화탄소를 이용한 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin 미립자와 이부프로펜과의 포접복합체 제조

유종훈\*

수원대학교 공과대학 화학공학과  
445-743 경기 화성시 봉담읍 와우안길 17

(2013년 5월 16일 접수; 2013년 6월 13일 수정본 접수; 2013년 6월 15일 채택)

## Utilization of Supercritical Carbon Dioxide for the Preparation of 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin Microparticles and Their Inclusion Complexes with Ibuprofen

Jong-Hoon Ryu\*

Department of Chemical Engineering, The University of Suwon  
15 Wauan-gil, Bongdam-eup, Hwaseong-si, Gyeonggi 445-743, Korea

(Received for review May 16, 2013; Revision received June 13, 2013; Accepted June 15, 2013)

### 요약

초임계 이산화탄소를 역용매로 이용하는 aerosol solvent extraction system (ASES) 방법을 사용하여 HP- $\beta$ -CD 미립자를 제조하였으며, 공정변수가 입자의 크기와 형태에 미치는 영향을 조사하였다. 또한, 초임계 이산화탄소를 이용하여 이부프로펜과 HP- $\beta$ -CD의 포접복합체를 제조하였으며, ASES 공정에 의해 변형된 HP- $\beta$ -CD의 입자 형상이 포접효율에 미치는 영향에 대해 고찰하였다. ASES 공정으로 제조된 HP- $\beta$ -CD 미립자는 50~200 nm 크기의 나노 입자들이 응집된 입자 형상을 나타내었다. 에탄올 수용액을 HP- $\beta$ -CD의 용매로 사용한 경우 구형의 입자가 제조되었으며, 물의 양이 증가함에 따라 입자의 크기가 증가하였다. 초임계 이산화탄소를 이용해 고체상에서 이부프로펜/HP- $\beta$ -CD 포접복합체를 제조하는 경우 초임계 ASES 방법에 의한 미세입자화 공정을 통해 포접효율을 향상시킬 수 있는 가능성을 확인하였다.

**주제어** : 초임계 이산화탄소, 싸이클로덱스트린, 미립자, 이부프로펜, 포접복합체

**Abstract** : The microparticles of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) were prepared using aerosol solvent extraction system (ASES) by employing supercritical carbon dioxide as an antisolvent. The effects of various process parameters such as temperature, pressure, solution concentration and solution flow rate on the formation of HP- $\beta$ -CD microparticles were investigated. The HP- $\beta$ -CD microparticles prepared by the ASES process were observed to consist of agglomerates of nano-sized (50-200 nm) particles. When an aqueous solution of ethanol was used as a solvent for HP- $\beta$ -CD, the HP- $\beta$ -CD particles were found to be spherical in shape and to become larger as the water content increased. It was confirmed that the micronization of HP- $\beta$ -CD using the ASES process could enhance the inclusion efficiency of ibuprofen/HP- $\beta$ -CD complexes significantly.

**Keywords** : Supercritical carbon dioxide, Cyclodextrin, Fine particles, Ibuprofen, Inclusion complex

### 1. 서론

제약 산업에서 약물을 함유한 대부분의 제형은 고체 형태로 제조되어 시판되고 있기 때문에 제형의 입자 크기와 형상을 제어하는 기술에 대한 연구는 매우 중요하다. 약물 또는 약물이 함유된 제형을 미립자 형태로 제조하는 방법으로는 용융법, 에멀전법, 상분리법, 용매 증발 및 추출법, 분무건조법

등이 널리 이용되고 있다[1,2]. 그러나 이와 같은 방법들의 경우 과량의 에너지 소비, 다량의 유기용매 및 폐수 배출로 인한 환경오염, 낮은 수율, 열민감성 약물의 효능 저하, 펩타이드/단백질 약물의 변성, 약물 내 유기용매의 잔존 등 많은 문제점을 안고 있다. 입자 제조 공정에서 발생하는 여러 문제점들을 해결할 수 있는 대체기술의 하나로 초임계 유체(supercritical fluid)를 이용한 입자 제조 기술이 선진국을 중심으로 심도있게 연구되고 있다[3-6].

초임계 유체는 어떤 물질의 임계점 이상의 온도와 압력조건에서 존재하는 유체로 정의된다. 초임계 유체는 입자 제조에

\* To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jhryu@suwon.ac.kr

doi:10.7464/ksct.2013.19.3.212

매우 적합한 열역학적 특성(높은 용해도, 선택도 및 압축성, 감압에 따른 자발적 분리성)과 이동 특성(낮은 표면장력 및 점도, 높은 확산계수)을 갖고 있다. 초임계 유체가 나타내는 용해도, 확산도 등의 성질은 압력 또는 온도를 좁은 범위 내에서 변화 시킴으로써 쉽게 조절할 수 있다. 다양한 종류의 초임계 유체 중 초임계 이산화탄소는 비교적 낮은 임계압력(7.38 MPa)과 상온에 가까운 임계온도(31.1 °C)를 갖고 있으며, 인체에 무해하고 가격이 저렴할 뿐만 아니라 폭발성 및 발화성이 없으며, 상온에서 감압에 의해 쉽게 회수할 수 있기 때문에 현재 미세 또는 나노입자의 제조공정에서 가장 많이 사용되고 있다[3-7].

초임계 유체를 이용한 입자 제조 기술의 경우 기존 입자 제조 방법에 비해 훨씬 적은 양의 유기용매가 사용되며 최종 제품 내 잔류 용매가 거의 없고 입자의 제조 및 건조 공정을 단일 공정으로 통합할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 초임계 유체를 이용한 입자 제조 방법은 크게 초임계 유체를 용매, 역용매(antisolvent), 또는 용질로 사용하는가에 따라 분류되며, 이 중 초임계 유체를 역용매로 이용한 방법이 현재 가장 널리 이용되고 있다[3-6].

초임계 유체를 대상 용질에 대한 역용매로 사용하여 입자를 제조하는 대표적인 방법으로는 aerosol solvent extraction system (ASES) 공정을 들 수 있다. 이 방법에서는 용질이 녹아있는 용액이 미세 노즐을 통하여 역용매인 초임계 유체 상으로 미세액적(droplet)의 형태로 분사된다. 액적 내의 용매는 빠른 속도로 초임계 유체상으로 증발되고, 이와 동시에 초임계 유체는 액적 내부로 확산되어 액적을 팽창시켜 액적 내 용매의 용질에 대한 용해도를 급격히 감소시켜 매우 빠른 속도로 비교적 균일한 분포를 갖는 입자가 형성된다[3-6]. 초임계 유체를 용매 또는 용질로 사용하는 입자 제조 방법의 경우 초임계 유체와 대상 물질의 상호 용해도로 인한 제약이 따르기 때문에 높은 공정온도와 압력이 요구되어 사용이 제한적이다[3].

사이클로덱스트린(cyclodextrin, CD)은 포도당(glucose) 분자들이 고리형태로 연결되어 입체적 특이성을 갖는 환상체(toroid) 올리고당으로 포도당이 6~8개 결합된 CD가 생산되고 있으며, 결합된 포도당 단위의 개수에 따라 각각  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD로 구분된다. CD의 내부는 탄소 골격과 에테르 결합으로 인해 비교적 소수성의 특성을 나타내며, CD의 외부는 포도당 단위에 존재하는 1차 및 2차 수산기(hydroxyl group)가 외부쪽으로 노출되어 있어 친수성을 갖게 된다. 이러한 구조적 입체 특이성과 친수성과 소수성을 동시에 지니고 있는 특성으로 인하여 다양한 종류의 소수성 분자와 포접복합체(inclusion complex)를 형성할 수 있기 때문에 화장품, 의약품, 소재 등 다양한 산업분야에서 이용되고 있다[8].

CD는 뛰어난 생체적합성과 효소에 의한 분해 특성을 가지며, 다양한 guest 분자(특히, 약물)를 CD와 포접복합체를 형성하도록 함으로써 약물의 안정성과 수용액에서의 용해도, 생체 이용률 등을 향상시킬 수 있는 동시에 약물의 독성은 감소시킬 수 있다는 장점을 갖고 있다. 포도당 단위 분자의 개수에 따라 다양한 공동(cavity) 크기를 갖는 CD의 구조적 입체 특성은 guest 분자의 크기에 따라 선택적으로 포접복합체를 형

성할 수 있도록 한다. CD와 포접복합체를 형성할 수 있는 소수성 guest 분자에는 저분자량의 약물, 염료, 모노머뿐만 아니라 고분자, 단백질, 펩타이드 등과 같은 고분자량의 물질도 포함된다.

De Marco and Reverchon[9]은  $\alpha$ -와  $\beta$ -CD의 미립자 제조에 있어서 초임계 ASES 공정의 변수가 입자의 형태와 크기에 미치는 영향을 분석하기 위한 연구를 수행하였다. 또한, 여러 연구팀에 의해 유기용매를 사용하지 않고 초임계 이산화탄소를 용매로 이용하여 고체상태에서 약물과 CD의 포접복합체를 제조하기 위한 다양한 연구가 수행되었다[10-14]. 그러나 이들 연구에서는 입자 크기가 상당히 큰 시판되는 형태의 CD를 그대로 사용하였기 때문에 CD 입자의 형상이 포접효율에 미치는 영향에 대한 연구가 결여되어 있어 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다. 또한, 제약산업에서 약물의 용해도 및 안정성 향상을 위한 포접복합체 제조에 가장 널리 이용되고 있는 HP- $\beta$ -CD의 미립자 제조에 초임계 ASES 공정을 적용한 연구가 현재까지 보고된 바 없어 이에 대한 연구가 필요한 상황이다.

따라서, 본 연구에서는 초임계 ASES 방법을 이용하여 HP- $\beta$ -CD의 미립자를 제조하고, 온도, 압력, 용액의 유속과 농도, 용매 조성 등의 공정 변수가 입자의 형태와 크기에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 초임계 이산화탄소를 이용해 고체 상태에서 이부프로펜/HP- $\beta$ -CD 포접복합체를 제조할 때, 초임계 ASES 공정에 의한 HP- $\beta$ -CD의 미세입자화를 통해 약물과 HP- $\beta$ -CD의 포접효율을 향상시킬 수 있는 가능성을 확인하고자 하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1. 시약 및 재료

2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD, Sigma-Aldrich, USA)과 이부프로펜(ibuprofen, Sigma-Aldrich, USA)은 구입 후 더 이상의 정제과정 없이 사용하였으며, HP- $\beta$ -CD의 hydroxypropyl group 치환도(degree of substitution)는 4.0-6.0 범위의 값을 가졌다. 초임계 유체로는 99.95% 순도의 이산화탄소를 사용하였으며, HP- $\beta$ -CD를 용해하기 위한 용매로 HPLC급의 에탄올(ethanol, Fisher Scientific, USA)을 구입하여 바로 사용하였다. 이부프로펜의 함량 분석에서 이동상의 제조에 필요한 인산나트륨(disodium phosphate,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , Sigma-Aldrich, USA)과 아세토니트릴(acetonitrile, Sigma-Aldrich, USA)은 HPLC급으로 구입하여 추가 정제과정 없이 사용하였다.

### 2.2. 미립자 제조

본 연구에서 HP- $\beta$ -CD 미립자 제조를 위해 사용된 초임계 ASES 장치의 개략도를 Figure 1에 나타내었다. ASES 장치는 액체 상태의 이산화탄소를 공급하기 위한 고압 펌프, 용액의 주입과 분사를 위한 고압 정량펌프와 노즐, 입자 형성이 일어나는 고압 침전기, 입자 형성 후 이산화탄소와 용매를 분리하기 위한 분리조 등으로 구성되어 있다. 액체 상태의 이산화탄소를 액체 고압 펌프(Lewa, EL-1, Germany)로 공급하기 전에

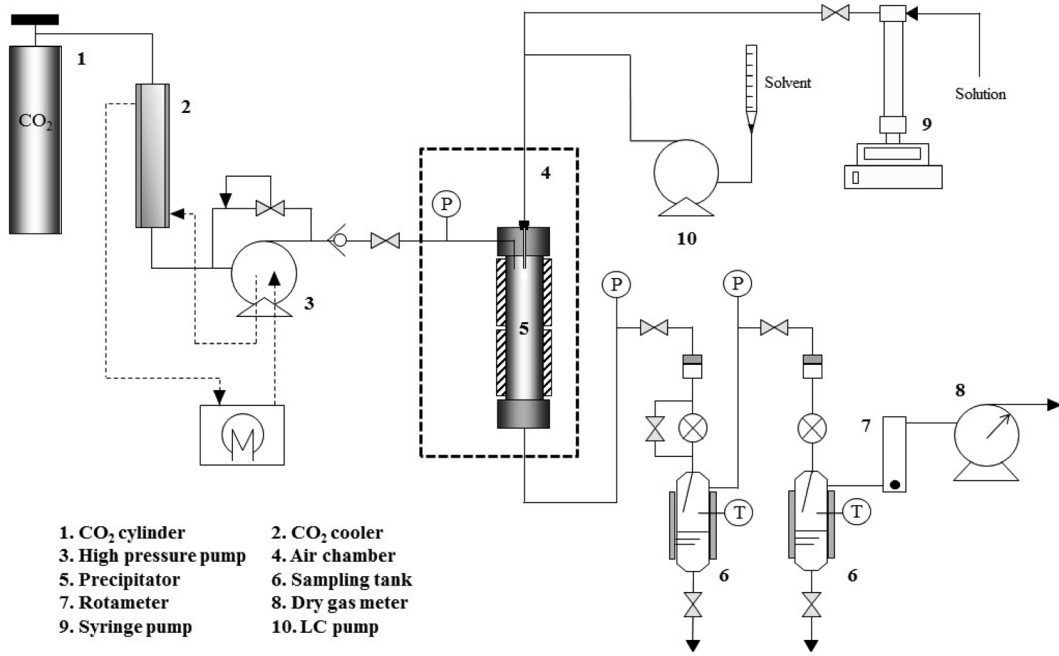


Figure 1. Schematic diagram of the supercritical ASES apparatus used in this study.

캐비테이션(cavitation)의 발생을 최소화하기 위해 0 °C 이하로 냉각한 후 펌프로 보내 가압하였다. 가압된 이산화탄소는 후방 압력 조절기(back-pressure regulator, 26-1700, Tescom, USA)에 의해 원하는 공정 압력으로 조절되었으며, 공정 온도로 예열된 후 고압 침전기의 상단으로 연속적으로 공급되었다.

HP-β-CD가 용해된 용액은 주사형 고압 정량펌프(syringe pump, 100D, ISCO, USA)에 의해 공급되었으며, 공정 온도로 예열된 후 침전기의 상단에 장착된 내경 127 μm의 노즐을 통해 초임계 이산화탄소가 채워진 침전기 내부로 연속적으로 분사되었다. 분사된 용액은 초임계 이산화탄소상에서 미세액적을 형성하게 되고, 형성된 액적 내부에 존재하는 용질은 초임계 이산화탄소와 용매간의 상호 물질전달에 의해 발생하는 과포화 과정을 통해 입자화되었다. 용액을 공급할 때 노즐 내부에서 초임계 이산화탄소와의 접촉에 의해 입자가 형성되는 것을 방지하기 위해 용액을 공급하기 전에 HPLC 펌프(Prep 24, LabAlliance, USA)를 이용하여 순수한 용매를 미리 공급하였으며, 용액 분사 후에도 노즐에 남아있는 용액을 제거하기 위해 용매를 1 mL 분사하였다. 이후 고압 침전기와 생성된 입자 내에 잔류하는 용매를 제거하기 위해 30분 동안 연속적으로 순수한 초임계 이산화탄소를 공급하여 입자를 건조하였다. 침전기 하단에는 5 μm의 공극을 갖는 금속 필터를 장착하여 생성된 입자들이 수집되도록 하였다. 또한, 사용된 용매는 초임계 이산화탄소와 함께 침전기 후방에 연결된 용매 회수부로 공급되어 감압에 의해 자발적으로 분리와 회수가 이루어지도록 하였다.

2.3. 포접복합체 제조

초임계 이산화탄소를 이용한 이부프로펜과 HP-β-CD의 포

접복합체 제조 실험은 Shehatta et al.[10]에 의해 제시된 방법에 따라 10 mL의 추출용량을 갖는 SFE-3560 (ISCO, USA) 초임계 유체 추출 장치를 이용해 수행하였다. 일정 양의 이부프로펜(60 mg)과 HP-β-CD (200 mg)를 1 : 4의 몰 비율로 섞어 막자 사발에 넣고 5분 동안 분쇄하여 혼합한 후, 10 mL 용량의 카트리지에 넣어 SFE-3560에 장착하였다. 40 °C와 30 MPa의 온도와 압력 조건에서 초임계 이산화탄소를 사용하여 정적 모드(static mode)로 설정하여 4시간 동안 이부프로펜과 HP-β-CD의 포접복합체를 제조한 후 초임계 이산화탄소를 0.1 mL/min의 유속으로 흘려보내는 동적(dynamic) 추출을 30초간 수행한 후 이산화탄소를 빠르게 대기중으로 방출하였다.

2.4. SEM 분석

제조된 입자의 크기 및 형태는 전계방출 전자현미경(field-emission scanning electron microscope, FE-SEM, JSM6700F, JEOL, Japan)을 이용하여 관찰하였다. SEM 분석은 소량의 입자를 채취하여 카본 테이프가 부착된 금속 스테브(metal stub)에 고정시키고, 금/팔라듐(Au/Pd)으로 코팅한 후 15 kV의 전압 하에서 수행하였다.

2.5. HPLC 분석

포접복합체 제조에 사용된 이부프로펜의 함량은 high-performance liquid chromatography (HPLC, 600 Series, 717 Autosampler, Waters, USA)를 이용하여 분석하였다. 이부프로펜은 Hypersil ODS (5 μm, 4.6 × 150 mm, Thermo Electron, USA) 칼럼을 사용하여 분리하였다. 이동상으로는 0.1 M 농도의 인산나트륨(disodium phosphate)에 진한 인산을 첨가해 pH를 2.4로 조절한 수용액과 아세토니트릴(acetonitrile)을 50:50 (v/v)

의 비율로 혼합한 용액을 1.0 mL/min의 유속으로 사용하였으며, 230 nm의 파장에서 자외선 검출기를 사용하여 이부프로펜의 함량을 미리 작성된 검량곡선을 이용하여 분석하였다.

2.6. 포접효율 분석

초임계 이산화탄소를 이용해 고체 상태에서 제조된 이부프로펜과 HP-β-CD 포접복합체 중 실제로 HP-β-CD 내부에 포접된 이부프로펜의 양을 상대적으로 나타내기 위해 포접효율(inclusion efficiency)을 이용하였다. 포접효율은 제조된 포접복합체에 존재하는 총 이부프로펜의 양과 CD에 포접된 이부프로펜 양의 상대적인 비로 나타내었다. 포접효율을 분석하기 위해 CD에 포접되지 않는 이부프로펜을 헥산을 이용해 추출한 후 그 양을 측정하였다[11]. 제조된 포접복합체에 존재하는 이부프로펜의 총량을 측정하기 위해 약 10 mg의 포접복합체를 0.05 mL의 인산나트륨(dimethyl sulfoxide)에 완전히 용해시켜 포접된 이부프로펜을 용출한 후 아세토니트릴(acetonitrile)을 첨가하였다. 아세토니트릴(acetonitrile)의 첨가를 통해 HP-β-CD의 침전을 형성한 후, 이를 4,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 이부프로펜의 총량을 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 초임계 이산화탄소를 이용한 ASES 공정으로 HP-β-CD의 입자를 제조할 때 온도, 압력, 용액 유속, 용액 농도, 용매 조성 등의 공정 변수가 HP-β-CD 입자의 크기와 형태에 미치는 영향에 대해 조사하였다. 초임계 ASES 공정을 이용한 입자 제조 실험은 초임계 이산화탄소의 유속을 34~36 g/min으로 고정하고, 35~60 °C의 온도 범위와 8.5~25 MPa의 압력 범위에서 수행하였다. 또한, HP-β-CD의 용매로 사용한 에

탄올의 극성을 변화시키기 위해 소량의 물을 첨가하여 용매 조성이 입자 형성에 미치는 영향을 조사한 실험을 제외한 모든 실험에서는 에탄올을 용매로 사용하였다. 용액 유량과 농도의 영향을 조사하기 위한 실험을 제외한 모든 실험에서는 용액 유량과 농도를 각각 0.5 mL/min과 3%로 고정하여 실험하였다(Table 1).

3.1. 온도의 영향

동일 압력(13 MPa) 조건에서 HP-β-CD의 입자 제조에 온도 변화가 미치는 영향을 조사하기 위해 35-60 °C의 온도 범위에서 입자 제조실험을 수행하였다. 35 °C, 45 °C 및 55 °C에서 초임계 ASES 공정에 의해 제조된 입자의 SEM 사진을 구입한 HP-β-CD 입자의 사진과 함께 Figure 2에서 나타내었다. 그림에서 나타낸 것과 같이 원래의 HP-β-CD (Figure 2(a))는 50-100 μm 크기의 구형 입자 형태를 보이고 있으나, 초임계 ASES 공정에 의해 제조된 입자들은 온도 조건에 따라 나노 크기의 단위 입자들이 서로 응집된 구형 또는 불규칙한 입자 형태를 나타내었다.

임계점에 가까운 35 °C의 낮은 온도에서는 50~200 nm 크기의 구형 입자가 제조되었으나, 온도가 증가함에 따라 길게 늘려진 불규칙한 형태의 입자들이 형성된다는 사실을 확인하였다. 이와 같은 현상이 나타나는 이유는 온도가 증가함에 따라 초임계 이산화탄소의 밀도가 감소하게 되어 침전기 내 용매의 상대적 양이 증가할 뿐만 아니라 초임계 이산화탄소의 확산에 의한 유기 용매의 부피 팽창도가 감소하게 되어 결과적으로 액적 내 용질의 과포화 속도가 감소하기 때문이다. 또한, 온도 증가로 인해 분자의 운동성이 증가하여 액적이 서로 충돌하여 합쳐지거나 파괴될 확률이 증가하여 더 크고 불규칙한 입자를 형성하게 된다[15].

Table 1. Summary of preparative conditions of various HP-β-CD fine particles

Exp. No.	T (°C)	P (MPa)	Solution flow rate (mL/min)	Concentration (% w/v)	Solvent (% EtOH)	
CD 1	35	13	0.5	3	100	
CD 2	45					
CD 3	60					
CD 4	35	8.3				
CD 5		10				
CD 6		18				
CD 7		25				
CD 8		13				0.3
CD 9						1.0
CD 10	0.5					0.5
CD 11		1.0				
CD 12		3				95
CD 13	90					

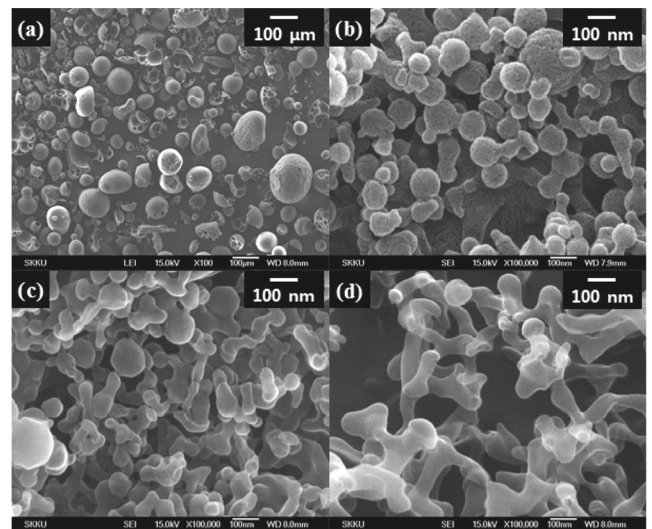
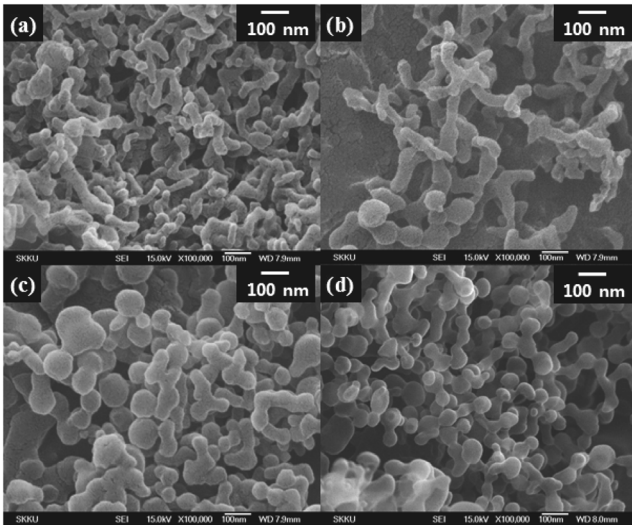


Figure 2. SEM micrographs of (a) original HP-β-CD and various ASES-processed HP-β-CD particles prepared at 13 MPa and different temperatures: (b) 35 °C, (c) 45 °C, and (d) 55 °C.



**Figure 3.** SEM micrographs of various ASES-processed HP-β-CD particles prepared at 35 °C and different pressures: (a) 8.5 MPa, (b) 10 MPa, (c) 18 MPa, and (d) 25 MPa.

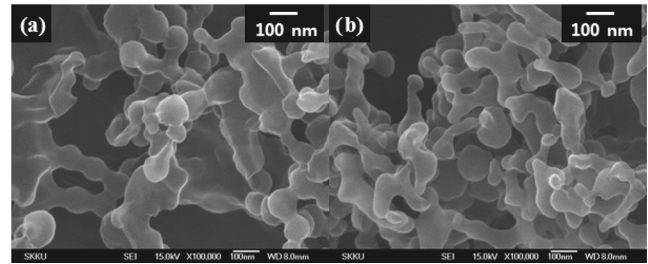
### 3.2. 압력의 영향

일정 온도(35 °C)에서 압력을 8.5~25.0 MPa의 범위에서 변화시키면서 입자를 제조하여 압력이 HP-β-CD의 입자 형성에 미치는 영향에 대해 조사하였다. Figure 3은 초임계 이산화탄소의 압력을 변화시켜 제조한 여러 입자들의 SEM 사진을 나타내고 있다. 그림에서 보는 바와 같이 압력이 증가함에 따라 입자 크기가 다소 증가하는 경향이 나타났으며, 입자 형태는 늘려진 막대 모양에서 점차로 구형에 가깝게 변화된다는 것을 확인할 수 있었다.

노즐을 통해 분사되는 액적의 크기는 계면장력(interfacial tension)과 초임계 이산화탄소의 밀도에 의해 영향을 받는다. 초임계 이산화탄소의 압력 증가에 따른 밀도의 증가는 용매의 분산성을 향상시키기 때문에 더 작은 액적이 형성된다. 또한, 압력이 증가함에 따라 유기 용매의 부피 팽창도는 증가하게 된다. 따라서 이산화탄소와 용매의 상호 물질전달 속도가 증가하게 되어 액적 내 용질이 빠르게 과포화 되기 때문에 액적 내에서 입자들이 개별적으로 침전되지 못하고 응집된 형태의 입자를 형성하게 된다[15]. 공정 온도와 압력을 변화시켜 HP-β-CD 입자를 제조하였을 때 35 °C의 온도와 13 MPa의 압력 조건에서 비교적 구형에 가깝고 단위 입자간의 응집이 작은 입자가 형성되었기 때문에 이 조건을 최적 조건으로 선정하여 다른 공정 변수의 영향을 조사하였다(Table 1).

### 3.3. 용액 유속의 영향

노즐을 통해 HP-β-CD가 녹아있는 에탄올 용액을 고압 침전기 내부의 초임계 이산화탄소 상으로 분무할 때 용액 유속이 입자 형성에 미치는 영향을 조사하기 위해 35 °C와 13 MPa의 조건에서 용액 주입 속도를 0.3~1.0 mL/min의 범위에서 변화시켜 실험을 수행하였다. 0.5 mL/min의 용액 유속 조건에서 제조된 HP-β-CD 입자의 SEM 사진은 Figure 2(b)에 이미 제시



**Figure 4.** Effect of solution flow rate on the size and morphology of ASES-processed HP-β-CD particles prepared at 35 °C and 13 MPa: (a) 0.3 mL/min and (b) 1.0 mL/min.

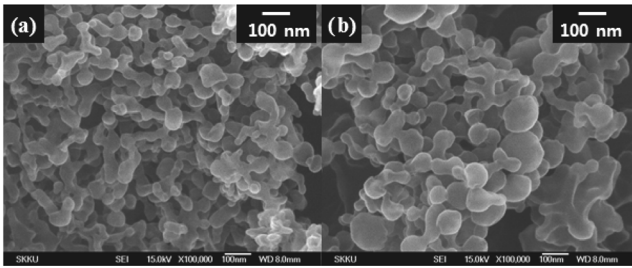
하였으며, 0.3과 1.0 mL/min의 용액 유속에서 제조한 입자의 사진을 Figure 4에 나타내었다. 용액 주입 속도가 비교적 낮은 0.3 mL/min의 조건에서 제조된 입자의 경우 단위 입자들이 서로 응집된 불규칙한 형상이 관찰되었으나, 용액 유속을 0.5 mL/min으로 증가시켜준 경우에는 입자간의 응집 현상이 현저히 감소한 구형의 입자가 생성되었다. 한편, 1.0 mL/min의 속도로 빠르게 용액을 주입한 경우에는 단위 입자들이 강하게 응집된 불규칙한 형상의 입자가 형성되는 것을 확인할 수 있었다.

초임계 ASES 공정에서 용액을 고압의 초임계 유체 상으로 주입할 때 일정 속도 이상으로 주입한 경우에만 용액이 분사되며, 분사된 용액의 제트 파괴(jet breakup)가 발생하게 되어 다양한 크기의 액적이 형성되는 것으로 알려져 있다[16]. 0.3 mL/min의 낮은 용액 유속에서는 노즐을 통해 분사된 용액의 제트 파괴가 충분히 이루어지지 않아 단위 입자들이 심하게 엉겨 붙은 불규칙한 형상의 입자가 제조되었으나, 유속을 0.5 mL/min로 증가시켜준 경우에는 분사된 용액의 제트 파괴가 원활하게 유도되어 단위 입자간의 응집이 현저히 감소한 구형의 입자가 생성된 것으로 생각된다. 분사된 용액의 제트 파괴가 충분히 발생할 수 있는 유속보다 더 빠르게 용액을 주입한 1.0 mL/min의 조건에서는 침전기 내부 유기용매의 상대적인 양의 증가로 인해 액적 내 용질의 과포화 속도가 감소하게 되어 심하게 응집된 불규칙한 형상의 입자가 형성되는 것으로 추정된다[15].

### 3.4. 농도의 영향

용액 중 HP-β-CD의 농도 변화가 입자 형성에 미치는 영향을 조사하기 위해, 35 °C와 13 MPa의 조건에서 용액 유속을 0.5 mL/min으로 고정하고 HP-β-CD의 농도를 0.5, 1.0 및 3.0 mg/mL로 변화시켜 입자를 제조하였다. 0.5와 1.0 mg/mL 농도의 용액을 사용해 제조한 HP-β-CD 입자의 SEM 사진을 Figure 5에 나타내었으며, 3.0 mg/mL 농도의 경우에는 입자의 SEM 사진을 Figure 2(b)에 제시하였다.

그림에 나타난 바와 같이 에탄올 용액 중의 HP-β-CD 농도가 증가함에 따라 입자의 크기가 증가하며 구형에 가까운 입자들이 제조되었다. 이와 같은 현상이 나타난 이유는 HP-β-CD의 농도가 증가함에 따라 용액의 점도와 표면장력이 증가하게 되어 더 큰 액적을 형성하기 때문이다. 또한, 용액의 농도



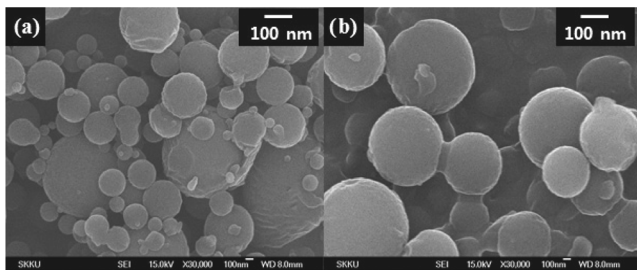
**Figure 5.** Effect of solution concentration on the size and morphology of ASES-processed HP-β-CD particles prepared at 35 °C and 13 MPa: (a) 0.5% and (b) 1.0%.

가 낮은 경우에는 액적이 역용매인 초임계 이산화탄소에 의해 팽창하여 포화된 후 용질이 침전되기 때문에 핵생성이 우선적으로 이루어져 상대적으로 더 작은 입자가 형성된다. 반면에 용액의 농도가 높은 경우에는 액적의 팽창 전에 용질이 침전되어 입자의 성장이 핵생성과 동시에 이루어져 낮은 농도의 용액에 비해 더 큰 입자들이 생성된다[17].

### 3.5. 물 첨가의 영향

초임계 ASES 공정을 이용해 HP-β-CD의 입자를 제조할 때 용매로 사용된 에탄올에 물을 첨가하여 용매의 극성을 변화시키는 것이 입자 형성에 미치는 영향을 조사하기 위해 각각 95%와 90% 에탄올 수용액을 용매로 사용하여 35 °C와 13 MPa의 조건에서 용액의 유속과 농도를 0.5 mL/min와 3.0 mg/mL으로 고정하여 실험을 수행하였으며, 그 결과를 Figure 6에 나타내었다. 또한, 동일 조건에서 순수한 에탄올을 사용해 제조한 입자의 SEM 사진은 Figure 2(b)에 이미 제시되어 있다. Figure 6에 나타난 바와 같이 물이 첨가된 에탄올을 HP-β-CD의 용매로 사용한 경우 순수한 에탄올을 사용한 경우에 비해 좀 더 구형인 입자가 생성되었으며, 물의 첨가량이 증가함에 따라 입자 크기가 증가하였다. Zhong et al.[18]의 연구에서도 초임계 유체를 이용해 입자를 제조할 때 용매에 물을 첨가한 경우 입자 크기가 증가한 구형의 입자들이 생성된다는 결과가 보고되었다.

에탄올에 혼합된 물의 양이 증가함에 따라 입자의 크기가 증가하고 형태가 구형에 가까워지는 이유는 첨가된 물로 인해 용매의 HP-β-CD에 대한 용해도와 용액의 계면장력이 증가하



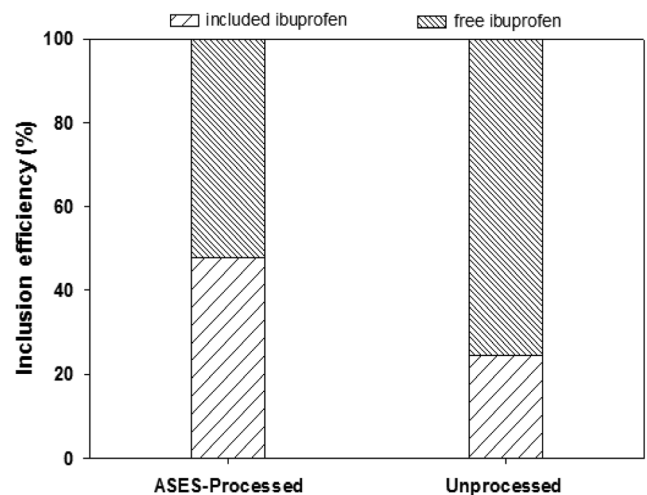
**Figure 6.** Effect of solvent composition on the size and morphology of ASES-processed HP-β-CD particles prepared at 35 °C and 13 MPa: (a) 95% EtOH and (b) 90% EtOH.

기 때문이다. 즉, HP-β-CD이 녹아 있는 용액을 초임계 이산화탄소 상으로 노즐을 통해 분사할 때 초임계 이산화탄소와의 친화력이 좋지 않은 물이 첨가됨으로써 용액의 계면장력이 증가하게 되어 크기가 더 큰 구형의 액적이 형성된다. 용매와 초임계 이산화탄소와의 친화력 감소로 인해 액적 내 용매의 팽창도가 감소하기 때문에 액적 내 핵생성 비율이 감소하게 되어 결과적으로 더 큰 입자들이 형성되는 것으로 판단된다.

### 3.6. 포접효율

초임계 이산화탄소를 이용해 고체 상태에서 이부프로펜과 HP-β-CD의 포접복합체를 제조할 때 HP-β-CD의 입자 크기가 포접효율에 미치는 영향을 조사하기 위해 SFE-3560 초임계 추출장치를 이용하여 포접복합체를 제조하였다. 초임계 ASES 공정에 의해 미세화된 HP-β-CD 입자와 구입한 상태 그대로의 HP-β-CD 입자를 사용해 포접복합체를 제조하고 포접된 이부프로펜의 양을 비교 분석하여 HP-β-CD 입자 크기의 영향을 조사하였다. 이 실험에서는 Table 1의 CD-1에 제시된 공정 조건에서 제조된 HP-β-CD 미세 입자를 사용하였다.

초임계 이산화탄소를 이용해 고체 상태에서 포접복합체를 제조한 결과 포접복합체 입자의 회수율은 약 80%로 나타났다. 회수된 입자 중 이부프로펜과 HP-β-CD의 몰 비율은 1:4의 초기 투입비에서 1:6으로 변화하여 이부프로펜의 양이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 포접복합체 제조 시 초임계 이산화탄소에 용해된 이부프로펜이 포접복합체 제조 후 이산화탄소를 방출할 때 함께 소실되기 때문이다. 초임계 ASES 공정을 통한 HP-β-CD 입자의 크기 감소가 이부프로펜의 포접효율에 미치는 영향을 분석하여 Figure 7에 나타내었다. 그림에 나타난 것과 같이 초임계 ASES 공정에 의해 미세입자화된 HP-β-CD의 경우 시판되는 HP-β-CD 입자보다 약 2배 높은 포접효율을 보였다. 이는 Figure 2에 나타난 것과 같이 시판되는 HP-β-CD의 입자 크기는 수십 μm 수준이지만 초임계 ASES



**Figure 7.** Effect of supercritical CO<sub>2</sub> ASES micronization on the inclusion complexation efficiency of ibuprofen with HP-β-CD.

공정을 통해 제조된 HP- $\beta$ -CD 입자의 경우 나노 수준의 크기를 가져 포접복합체 형성을 위한 표면적이 현저히 증가하기 때문이다. 즉, HP- $\beta$ -CD 입자의 표면적이 증가함에 따라 이부프로펜이 용해된 초임계 이산화탄소와의 접촉 면적이 증가하여 HP- $\beta$ -CD 입자 내부로의 침투가 용이해지기 때문에 더 높은 포접효율을 갖게 되는 것이다. 초임계 ASES 공정을 통해 HP- $\beta$ -CD의 입자를 제조할 때 입자 크기의 감소뿐만 아니라 결정성의 변화도 포접효율에 영향을 미칠 수 있기 때문에 본 실험에서 얻은 결과에 대한 원인을 명확히 규명하기 위해서는 향후 추가적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 초임계 ASES 공정을 이용하여 약물의 용해도와 안정성을 향상시키기 위해 널리 사용되고 있는 HP- $\beta$ -CD의 입자를 제조하고, 다양한 공정변수가 입자의 크기와 형태에 미치는 영향에 대해 고찰하였다. 초임계 ASES 공정을 이용하여 HP- $\beta$ -CD의 입자를 제조한 결과 공정 변수에 따라 나노 크기에서 수 마이크로 크기의 입자를 제조할 수 있었으며, 용매로 사용된 에탄올에 물을 첨가함으로써 입자의 크기를 증가시키고 형태를 구형으로 만들 수 있다는 사실을 확인하였다. 또한, 유기용매를 사용하지 않는 초임계 이산화탄소 공정을 이용해 고체 상태에서 이부프로펜과 HP- $\beta$ -CD의 포접복합체를 제조할 때 초임계 ASES 공정을 통해 HP- $\beta$ -CD를 미세입자화함으로써 약물의 포접효율을 향상시킬 수 있다는 가능성을 확인하였다.

#### 감사

본 논문은 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ009502)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

- Jain, R. A., "The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable Poly (Lactide-co-Glycolide) (PLGA) Devices," *Biomaterials*, **21**(23), 2475-2490 (2000).
- Lassalle, V., and Ferreira, M. L., "PLA Nano- and Microparticles for Drug Delivery: An Overview of the Methods of Preparation," *Macromol. Biosci.*, **7**(6), 767-783 (2007).
- Yeo, S. D., and Kiran, E., "Formation of Polymer Particles with Supercritical Fluids: A Review," *J. Supercrit. Fluids*, **34**(3), 287-308 (2005).
- Bahrami, M., and Ranjbarian, S., "Production of Micro- and Nano-Composite Particles by Supercritical Carbon Dioxide," *J. Supercrit. Fluid*, **40**(2), 263-283 (2007).
- Kompella, U. B., and Koushik, K., "Preparation of Drug Delivery Systems Using Supercritical Fluid Technology," *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, **18**(2), 173-199 (2001).
- Martin, A., and Cocero, M. J., "Micronization Processes with Supercritical Fluids: Fundamentals and Mechanisms," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**(3), 339-350 (2008).
- Shin, M. S., and Kim, H., "Preparation of Poly (N-Vinyl-2-Pyrrolidone) Microparticles Using Supercritical Anti-solvent," *Clean Tech.*, **14**(4), 242-247 (2008).
- Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., and Khar, R. K., "Cyclodextrin in Drug Delivery: An Updated Review," *AAPS Pharm. Sci. Technol.*, **6**(2), E329-E357 (2005).
- De Marco, I., and Reverchon, E., "Supercritical Anti-solvent Micronization of Cyclodextrins," *Powder Technol.*, **183**(2), 239-246 (2008).
- Shehatta, I., Al-Marzouqi, A. H., Jobe, B., and Dowaidar, A., "Enhancement of Aqueous Solubility of Itraconazole by Complexation with Cyclodextrins Using Supercritical Carbon Dioxide," *Can. J. Chem.*, **83**(10), 1833-1838 (2005).
- Hussein K., Türk, M., and Wahl, M. A., "Comparative Evaluation of Ibuprofen/ $\beta$ -Cyclodextrin Complexes Obtained by Supercritical Carbon Dioxide and Other Conventional Methods," *Pharm. Res.*, **24**(3), 585-592 (2007).
- Tozuka, Y., Fujito, T., Moribe, K., and Yamamoto, K., "Ibuprofen-cyclodextrin Inclusion Complex Formation Using Supercritical Carbon Dioxide," *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **56**(1-2), 33-37 (2006).
- Türk, M., Upper, G., Steurethaler, M., Hussein, Kh., and Wahl, M. A., "Complex Formation of Ibuprofen and  $\beta$ -Cyclodextrin by Controlled Particle Deposition (CPD) Using SC-CO<sub>2</sub>," *J. Supercrit. Fluids*, **39**(3), 435-443 (2007).
- Bandi, N., Wei, W., Roberts, C. B., Kotra, L. P., and Kompella, U. B., "Preparation of Budesonide- and Indomethacin-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin (HPBCD) Complexes Using a Single-Step, Organic-Solvent-Free Supercritical Fluid Process," *Eur. J. Pharm. Sci.*, **23**(2), 159-168 (2004).
- Chen, A.-Z., Pu, X.-M., and Kang, Y.-Q., "Study of Poly (L-Lactide) Microparticles Based on Supercritical CO<sub>2</sub>," *J. Mater. Sci.- Mater. Med.*, **18**(12), 2339-2345 (2007).
- Lee, L. Y., Kim, L. K., Hua, J., and Wang, C.-H., "Jet Breakup and Droplet Formation in Near-critical Regime of Carbon Dioxide-Dichloromethane System," *Chem. Eng. Sci.*, **63**(13), 3366-3378 (2008).
- Reverchon, E., De Marco, I., Caputo, G., and Della Porta, G., "Pilot Scale Micronization of Amoxicillin by Supercritical Anti-solvent Precipitation," *J. Supercrit. Fluids*, **26**(1), 1-7 (2003).
- Zhong, Q., Jin, M., Xiao, D., Huilin T., and Zhang, W., "Application of Supercritical Anti-solvent Technologies for the Synthesis of Delivery Systems of Bioactive Food Components," *Food Biophys.*, **3**(2), 186-190 (2008).