

초임계유체를 사용한 세포독심 프록세틸의 결정화

주준호¹, 리광화², 노경호², 김화용¹, 이운우^{1,3*}¹서울대학교, ²인하대학교, ³서울대학교 화학공정신기술연구소
(ywlee@snu.ac.kr*)

Crystallization of Cefpodoxime Proxetil using Supercritical Fluid

Junho Chu¹, Guanghua Li², Kyung Ho Row², Hwayong Kim¹, Youn-Woo Lee^{1,3*}¹Seoul National University, ²Inha University,³Institute of Chemical Processes Seoul National University
(ywlee@snu.ac.kr*)

서론

초임계유체를 이용한 미세입자 제조는 다양한 분야에서 발전되어왔고, 특히 초임계유체를 사용한 약물 입자 제조에 대한 많은 연구가 수행되고 있다. 약물의 미세 입자를 제조하는데 있어서 몇 가지 방법이 알려져 있는데 Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS)과 Aerosol Solvent Extraction System(ASES)이 가장 많이 사용되고 있다. 특히, 초임계 이산화탄소를 역용매로 사용한 ASES 공정의 경우 다양한 특징을 가지고 있는데 용매와 역용매 사이의 빠른 물질 전달(mass transfer)에 의하여 좁은 입자 분포를 가지는 미세 입자를 제조할 수 있는 장점이 있다. 또한, 초임계 이산화탄소의 큰 확산성과 침투성으로 인하여 입자에 남아 있는 잔류 용매를 거의 완전히 제거할 수 있다. 이산화탄소는 무독성, 비가연성일 뿐만 아니라, 공정이 완료된 후 압력을 낮추는 과정에서 기체로 기화되어 제거되기 때문에 제품에 잔류하지 않는다. 본 연구에서 사용된 경구용 항생제인 세포독심 프록세틸 (Cefpodoxime proxetil, CPD)의 화학명은 [6R-[6,7(Z)]]-7-[[[2-Amino-thiazol-4yl)-(methoxyimino)acetyl]amino]-3-(methoxymethyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid 1-[[[(1-methyl-ethoxy)carbonyl]oxy]ethyl ester]이고 그람 양성균 및 음성균에 대하여 광범위한 활성을 가지고 있다. 그러나 이 약물의 경우 수용액에 대한 용해도 및 분산도가 좋지 않아 생체이용률(bio-availability)이 낮은 문제점이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 초임계 이산화탄소를 사용한 ASES 공정을 사용하여 세포독심 프록세틸 (Cefpodoxime proxetil, CPD) 미세 입자를 제조하였다. 또한, 결정화 과정 중 용액의 농도, 용매의 종류 및 용매와 역용매 사이의 질량비의 변화에 따른 CPD 입자 크기 및 형태의 변화에 관하여 조사하였다.

실험

실험에 사용한 CPD는 한미정밀화학(주)에서 공급받았고, 이산화탄소(99.0%)는 신양산소에서 구입하여 사용하였다. 용매로 사용한 Methylene chloride(MC, HPLC grade, J. T. Baker), Ethyl acetate(EA, GR grade, Merck) 및 Acetone(AC, 99.0%, Samchun)은 추가의 정제과정 없이 사용하였다. 또한, 실린더 형태의 필터에 PTFE(Polytetrafluoroethylene, 0.5 μ m pore size, Millipore), PVDF(Polyvinylidene fluoride, 0.45 μ m pore size, Millipore) 재질의 membrane을 장착하여 회수율 측정에 사용하였다.

CPD의 결정화는 Figure 1에 나타난 바와 같이 자체설계 및 제작한 ASES 장치를 사용하여 수행하였다. 침전기는 육안 관찰이 가능하도록 윈도우가 장착된 34cm³ 부피의 셀로 이루어져 있고, 온도 조절을 위하여 열교환기가 장치되어 있다. 우선, 원하는 온도(35 $^{\circ}$ C)로 장치를 예열한 후 고압펌프 (Pulsafeeder Inc, USA)를 사용하여 이산화탄소를 주입하였고(유량: 12.8g/min), 원하는 압력(10~15MPa)까지 상승한 후 후방 압력 조절기(Tescom, USA)로 압력을 조절하였다. CPD 용액은 노즐 (내경: 254 μ m, Supelco, USA)을 통하여 또 다른 고압펌프(Milton

Roy, USA)를 사용하여 일정한 유량(0.4mL/min)으로 주입하였다. 용액이 침전기 안으로 주입되면 CPD 입자가 형성되고 유체의 흐름에 따라 침전기에서 필터로 이동하여 수집된다. 마지막으로, 용액의 분사가 완료된 후 결정에 잔류할 수 있는 용매를 제거하기 위하여 초임계 이산화탄소를 10분간 흘려주었다. 세척이 완료된 후 장치의 압력을 제거하고 필터에 수집된 결정을 회수하여 수율을 측정하였고 분석을 수행하였다.

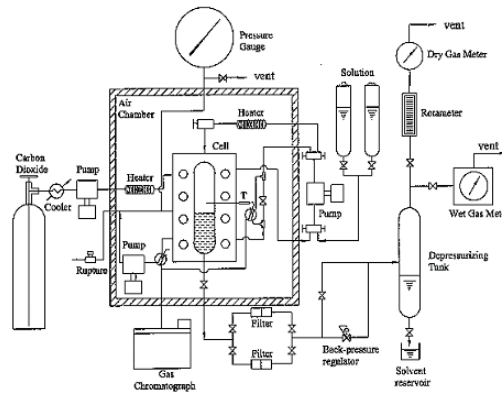
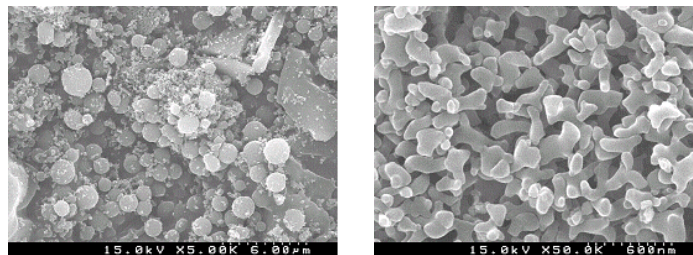


Figure 1. Schematic diagram of ASES apparatus.

결과 및 토론

원료 CPD와 ASES 공정을 사용하여 재결정한 CPD 입자의 SEM 분석 결과를 Figure 2에 나타내었다. ASES 공정을 거치기 전의 원료 CPD 입자의 경우 나노 크기의 구형 입자, 마이크로 크기의 구형 입자 및 수 마이크로 크기의 판형 입자로 구성되어 있고, 이러한 세 가지 형태의 입자가 불규칙하게 혼합되어 있다. ASES 공정을 통하여 재결정한 입자의 경우 원료 물질과 비교하여 상대적으로 입자분포가 균일해진 것으로 나타났다. 입자의 형태를 고려하면 100~200nm 크기의 CPD 일차 입자 (primary particle)가 생성된 후, 결정화 과정 중 이 입자들 사이에 응집 현상이 발생하여 이차 입자 (secondary particle)가 생성된 것으로 생각된다. 3~4개의 일차 입자의 응집에 의하여 생성된 이차 입자의 경우 200~400nm 크기를 가지고 있었다.



(a) Raw CPD (x 5,000) (b) Micronized CPD (x 50,000)

Figure 2. SEM images of raw and micronized CPD using ASES process.

CPD의 결정화 조건을 변화시켜 수득한 입자들의 SEM 사진들을 Figure 3에 나타내었다. 용액의 농도에 따른 변화를 조사하기 위하여, 35°C, 10MPa의 조건에서 MC를 용매로 사용하여 CPD 용액의 농도를 0.3wt% ~ 1.0 wt%로 변화시켜 입자를 제조하였고, 회수한 결정들의 SEM 사진들을 Figure 3.(a)~(d)에 나타내었다. CPD 용액의 농도가 증가함에 따라 입자의 크기가 증가하는 경향을 보였고, 입자간의 응집에 의하여 입자 모양이 크게 영향 받는 것으로 나타났다. 농도가 높을 경우 일차 입자의 생성양이 많으므로 결정화 과정 중 입자간 응집이 발생할 가능성이 커지게 된다. 따라서 입자간 응집이 강하게 발생하고 이에 따라 더 큰 입자가 생성된 것으로 생각된다. 그러나 이산화탄소의 압력을 10MPa에서 15MPa로 증가시켰을 경우 입자의 크기나 형태에 큰 변화가 없는 것을 관찰할 수 있었다.

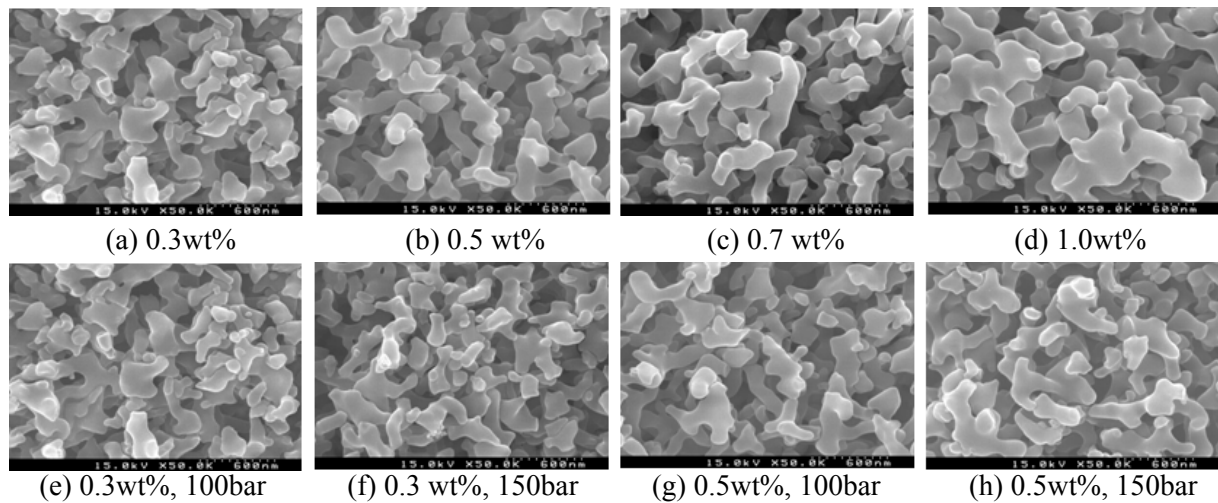


Figure 3. SEM images of CPD particles obtained from various conditions.

결정화에 미치는 용매의 영향을 조사하기 위하여 CPD 용액의 제조에 사용하는 용매를 methylene chloride에서 acetone과 ethyl acetate로 변화시켰고 각각의 SEM 사진을 Figure 4에 나타내었다. Methylene chloride를 용매로 사용하였을 경우 일차 입자의 크기가 증가한 것으로 나타났고, 일차 입자의 응집에 의하여 생성되는 이차 입자의 크기도 또한 증가하였다. 이러한 결과는 CPD에 대한 MC의 용해도가 EA보다 크기 때문이라 추측하고 있다. 즉, CPD에 대하여 용해도가 좋은 MC를 용매로 사용한 결과, 결정화 과정에서 형성된 입자와 입자 사이에 부분적인 용해 과정과 결정화 과정이 반복되어 응집이 발생할 가능성이 증가하였기 때문이라 생각된다. 반면에 acetone을 용매로 사용하였을 경우 ethyl acetate와 유사하거나 약간 큰 입자 크기로 나타났다. 이러한 결과로부터 ASES 공정을 이용하여 CPD 입자를 제조할 경우 용매의 선택이 중요한 인자인 것을 확인할 수 있었고 ethyl acetate를 용매로 사용하였을 경우 가장 균일한 입자 분포를 가지는 입자를 제조할 수 있었다.

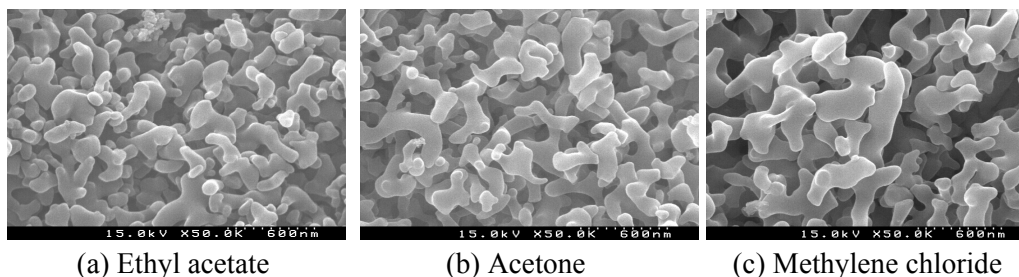


Figure 4. The effect of solvent on CPD particles at 35°C, 100bar. Concentration: 0.7 wt%.

CPD 미세 입자 제조 과정에 있어서 입자간의 응집 현상이 입자의 크기와 형태를 결정하는 가장 중요한 요인으로 작용하기 때문에 결정화 과정 중 발생하는 응집 현상을 감소시키기 위하여 이산화탄소와 CPD용액 사이의 질량비(이산화탄소의 질량/CPD 용액의 질량)를 22, 44 및 88로 증가시켰다. Figure 5의 SEM 사진에서 나타난 바와 같이, 질량비가 증가함에 따라 입자의 크기가 작아졌고, 입자의 모양도 구형에 가까운 형태로 변화되었다. 이 경우 역용매로 사용된 이산화탄소의 양은 일정하나 CPD 용액의 주입 속도가 감소하게 되어 상대적으로 용매의 양이 감소한 효과가 나타난다. 즉, 입자의 응집에 큰 영향을 미치는 용매의 양이 감소하게 되므로 일차 입자의 응집 현상이 현저히 감소하게 되어 입자가 작고 구형에 가까운 상태로 남아 있게 된 것으로 판단된다.

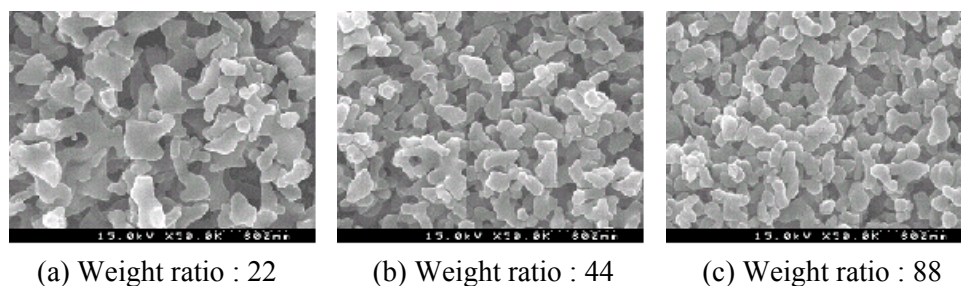


Figure 5. The effect of sc-CO₂ weight / CPD solution weight ratio on CPD particles at 35 °C, 100bar. Concentration: 0.3 wt% in MC

마지막으로, ASES 공정을 통하여 생성된 입자의 회수율의 측정을 시도하였다. 결정화 공정에 있어 회수율은 제품의 생산 단가와 직접적으로 연관되어 있어 매우 중요하다. CPD의 경우 약물 분말에 존재하는 정전기로 인하여 입자를 회수하기 까다로운 문제점이 있다. 이를 해결하기 위하여 membrane를 사용한 실린더 형태의 필터를 제작하여 회수율을 측정하였다. Membrane을 사용할 경우 stainless steel 필터의 경우와 비교하여 상대적으로 입자 회수가 용이한 장점을 가지고 있다. 그 결과, Table 1에 나타난 바와 같이 평균 80% 수준의 회수율을 보였다.

Table 1. The experimental conditions and the recovery yields of CPD

Concentration	Solvent	Membrane	Yield
1.0 wt %	MC	PTFE	79 %
2.0 wt %	MC	PVDF	82 %
1.0 wt %	EA	PVDF	78 %

결론적으로, 초임계 이산화탄소를 사용한 ASES 공정을 통하여 CPD 미세입자를 제조하였고 SEM을 통하여 입자의 형태 및 크기를 조사한 결과 100~200nm 크기의 일차 입자의 응집에 의하여 200~400nm 크기의 이차 입자가 형성되는 것으로 나타났다. 입자의 형태 및 크기에 주로 영향을 미치는 공정 변수는 CPD 용액의 농도, 용매의 종류 및 CPD용액과 이산화탄소의 질량비인 것으로 나타났다. 각각의 공정 변수를 조절함에 따라 입자의 형태 및 크기를 조절할 수 있었고, 원료물질과 비교할 때 입자의 크기가 감소하였고 균일한 입자크기를 얻을 수 있었다. 또한 CPD의 회수율을 조사한 결과 평균 80%인 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Reverchon, E., "Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles", *J. Supercrit. Fluids*, 15, 1-21(1999).
2. Jung, J. and Perrut, M., "Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey", *J. Supercrit. Fluids*, 20, 179-219(2001).
3. Beckman, E. J., "Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing", *J. Supercrit. Fluids*, 28, 121-191(2004).
4. Li, G., Chu, J., Song, E. -S., Row, K. H., Lee, K. -H. and Lee, Y. -W., "Crystallization of acetaminophen micro-particle using supercritical carbon dioxide", *Korean J. Chem. Eng.*, 23(3), 482-487(2006).