Korean Chem. Eng. Res., 56(3), 370-375 (2018)
https://doi.org/10.9713/kcer.2018.56.3.370
PISSN 0304-128X, EISSN 2233-9558

분별침전에서 친수성 고분자 물질을 이용한 (+)-dihydromyricetin의 입자크기 감소

지성빈 · 김진현†

공주대학교 화학공학부
31080 충청남도 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2018년 2월 13일 접수, 2018년 4월 6일 수정본 접수, 2018년 5월 1일 채택)

Decreasing Particle Size of (+)-Dihydromyricetin Using Hydrophilic Polymer in Fractional Precipitation

Seong Bin Ji and Jin-Hyun Kim†

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 1223-24, Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan-si, Chungcheongnam-do, 31080, Korea
(Received 13 February 2018; Received in revised form 6 April 2018; accepted 1 May 2018)

요 약

본 연구에서는 생리활성물질 (+)-dihydromyricetin의 입자크기 감소를 위하여 친수성 고분자 물질을 첨가하여 분별침전을 수행하였다. 고분자 물질(HPMC 2910, PVP K90, PVA)이 첨가된 분별침전을 통해 (+)-dihydromyricetin 입자크기를 감소시킬 수 있었다. 특히 분별침전 시 HPMC 2910 (0.1%, w/v)을 첨가할 경우, 대조군에 비하여 입자크기가 38-68 μm (32-40%) 정도 감소하여 입자크기 감소에 가장 효과적이었다. 또한 (+)-dihydromyricetin침전물의 입자크기는 친수성 고분자 물질 첨가에 따른 침전용액의 제타전위 절대값에 반비례함을 알 수 있었다.

Abstract – In this study, we have applied fractional precipitation with hydrophilic polymer in order to decrease the particle size of the (+)-dihydromyricetin from plant materials. When compared with the case where no hydrophilic polymer was employed, the addition of hydrophilic polymer in fractional precipitation resulted in a considerable decrease in the size of the (+)-dihydromyricetin precipitate. Among the polymers used, HPMC 2910 was the most effective for inhibition of precipitate growth. A polymer concentration of 0.1% (w/v) yielded the smallest particle size. The particle size was reduced by ~40% compared to control. In addition, the precipitate size was inversely correlated with the absolute value of the zeta potential of the suspension with polymer.

Key words: (+)-Dihydromyricetin, Fractional precipitation, Hydrophilic polymer, Particle size, Zeta potential

1. 서 론

(+)-Dihydromyricetin (화학식: $C_{15}H_{12}O_8$, 분자량: 320.25) (Fig. 1)은 (+)-ampelopsin으로도 알려져 있으며 플라바노놀(flavanonol)이며 플라보노이드 (flavonoid)의 한 종류이다. *Hovenia dulcis*와 *Ampelopsis grossedentata* 유래 생리활성물질로 알코올 분해 및 간질환 치료에 효능이 뛰어난 기능성 물질이며 숙취해소 및 간 보호 관련 기능성 식품 및 의약품의 원료로 사용되는 물질이다[1-5]. 2002년 Du 등[6]에 의해 *Ampelopsis grossedentata* 유래 (+)-dihydromyricetin이 고혈압 억제에도 상당히 효과가 있음을 보고하였으며 1996년 Yoshikawa 등[7]은 에탄올에 의한 근육이완 억제 효과 및 에탄올의 체내 대사촉진과 간 보호 효과 등이 있음을 보고하였다. 뿐만 아니라 항 알러지 효능에 대해 밝혀진 바 있다[8].

일반적으로 원료의약품(active pharmaceutical ingredient, API)의 경우 입자크기를 작게 할수록 그 활용도가 높아지게 된다. 입자크기가 작아질수록 제형 시 용해속도, 약물 분산의 균일성, 경구 생체이용률 등을 향상 시킬 수 있는 장점이 있다. 또한, 결정 입자의 크기가 작을수록 정제 후 건조 단계에서 잔류수분 및 잔류용매 제거에도 상당히 도움이 된다[9-11]. 이러한 측면에서 (+)-dihydromyricetin의 입자크기 감소는 그 활용 면에서 매우 중요하다. 입자크기를 줄이기 위한 기존 기술은 크게 breaking-down 기술과 building-up 기술로 분류할 수 있다. Breaking-down 기술은 이미 제조된 큰 입자의 의약품을 다양한 방식의 milling이나 고압호모게나이저(high pressure homogenization)에 의해 작은 입자로 분쇄하는 기술이다. 이 방식은 조업에 많은 에너지가 요구되고 조업 과정에서 의약품의 오염이나 분해가 발생할 수 있다. 반면 building-up 기술은 분자 수준의 의약

†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.

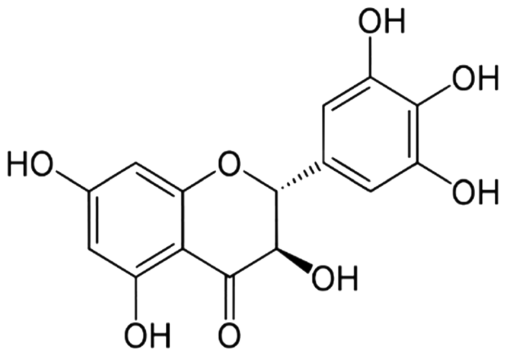

Fig. 1. The chemical structure of (+)-dihydromyricetin.

품을 분무건조, 증발, 초임계 안티솔벤트 등이 접목된 침전 기법에 의해 작은 입자의 의약품을 제조하는 기술이다[12]. 이 방식은 낮은 수율과 높은 장비 비용이 발생할 수 있다[12-16].

2008년 용해도 차이를 이용한 분별침전(fractional precipitation)에 의해 높은 순도(>83.2%)의 (+)-dihydromyricetin을 얻을 수 있는 간단하고 편리한 정제 공정이 개발되었다. 그러나 분별침전에 많은 시간(~32 시간)이 소요되어 대량생산 공정에 적용하는데 어려움이 있다[17,18]. 2014년 개선된 분별침전이 보고되었는데[18], 이온교환수지(Amberlite 200, Amberlite IR 120Na)를 이용하여 반응액 부피당 표면적을 증가시켜 분별침전 효율을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하였다. 특히, 표면적증가물질 Amberlite 200의 경우 상대적으로 짧은 침전시간(~16 시간)에 높은 수율(>90%)로 (+)-dihydromyricetin을 얻을 수 있어 침전에 소요되는 시간을 단축시킬 수 있었다[18]. 최근에는 분별침전 기법을 (+)-dihydromyricetin의 입자크기 감소에도 응용하고 있다[18,19]. 즉, 분별침전 시 다양한 종류의 이온교환수지를 첨가해 줌으로써 침전시간에 따른 (+)-dihydromyricetin 입자의 성장을 저해시켜 입자크기를 감소시킬 수 있다. 하지만 분별침전에 사용되는 이온교환수지의 비용 문제뿐만 아니라 분별침전 후 이온교환수지의 제거 문제와 같은 단점이 있다. 기존 문헌에 의하면 침전 과정에서 고분자 물질 첨가에 의해 다양한 원료의약품(megestrol acetate, spironolactone, atorvastatin calcium)의 입자크기 감소에 대한 연구결과가 보고되었다[9,20,21]. 동일한 고분자 물질 첨가에서 원료의약품의 종류에 따라 입자크기 감소 효과에 차이를 보였다. 이러한 연구결과들로부터 이온교환수지 대신 고분자물질을 이용하여 분별침전을 수행할 경우 이온교환수지 첨가에 따른 비용과 제거 문제를 동시에 해결함으로써 보다 효율적으로 작은 입자의 (+)-dihydromyricetin을 제조할 수 있을 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 분별침전 기법에 친수성 고분자 물질[HPMC 2910 (hydroxypropyl methyl cellulose 2910), PVP-K90 (polyvinylpyrrolidone-K 90), PVA (polyvinyl alcohol, molecular weight 31,000-50,000)]을 도입하여 (+)-dihydromyricetin의 입자크기를 줄일 수 있는지를 조사하였다. 즉, 분별침전 시 고분자 물질의 종류와 농도를 달리하여 첨가하고 분별침전 시간에 따른 (+)-dihydromyricetin 입자 성장 양상을 조사함으로써 입자크기 감소 가능성을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. (+)-Dihydromyricetin 시료

본 연구에 사용된 (+)-dihydromyricetin는 Guilin Natural Ingredient, Inc. (Guilin, China)에서 구입한 제품(순도: 80.0%)를 사용하였다.

2-2. (+)-Dihydromyricetin 분석

(+)-Dihydromyricetin 분석을 위해 HPLC system (SCL-10 AVP, Shimadzu, Japan)과 Capcell Pak C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm, Shiseido, Japan) 컬럼을 사용하였다. 이동상은 distilled water와 acetonitrile 혼합용액(90/10~30/70, v/v, gradient mode)을 60분 동안 유속 1.0 ml/min으로 흘려주었다. 시료는 이동상인 distilled water와 acetonitrile 혼합용액(90/10, v/v)에 녹여 주입(주입양은 20 μl) 하였으며, 254 nm에서 UV에 의해 검출하였다. HPLC 분석은 표준 정량곡선을 이용하였으며, 표준물질은 Guilin Natural Ingredient, Inc. (Guilin, China)에서 구입한 순도 98%의 제품을 사용하였다[18]. 각 시료는 3회 분석하여 평균값을 취하였다.

2-3. 분별침전

(+)-Dihydromyricetin 시료(순도: 80.0%)를 아세톤에 녹이고(0.1 g/ml), 고분자 물질인 HPMC 2910, PVP-K90, PVA 31,000-50,000를 각각 증류수에 미리 충분히 녹인 뒤 사용하였다. 증류수(distilled water/acetone solution ratio=5/1, v/v)를 교반(350 rpm)하에 5초에 한 방울씩 떨어뜨려 용해도 차이를 이용하여 (+)-dihydromyricetin 침전을 유도하였다. 반응기 부피는 20 ml이며 반응액 부피(working volume)는 6 ml이었다. 분별침전 용액은 저온(4 ºC)의 항온항습기(KCL-2000W, EYELA, Japan)에 침전시간(6, 12, 18, 24 시간)을 달리하여 (+)-dihydromyricetin의 침전물을 얻었다. 고분자 물질의 농도를 0.05, 0.1, 0.2% (w/v)로 변화시켜 동일한 방법으로 반복 실험을 수행하였고 침전물을 전자현미경을 이용하여 측정하였다. (+)-Dihydromyricetin의 분별침전 개략도를 Fig. 2에 나타내었다.

2-4. 침전물 형태 및 크기 확인

분별침전 공정에서 (+)-dihydromyricetin 침전물 형태 및 크기 측정을 위하여 전자현미경(SV-35 Video Microscope System, Some Tech, Korea)을 사용하였다. 분별침전을 통해 얻은 (+)-dihydromyricetin 침전물을 고배율(×200)에서 관찰하였다. 관찰된 (+)-dihydromyricetin 침전물은 IT-Plus system (Some Tech, Korea)에서 동화상으로 확인하였으며 이를 통해 (+)-dihydromyricetin 침전물의 형태와 크기를 확인하였다.

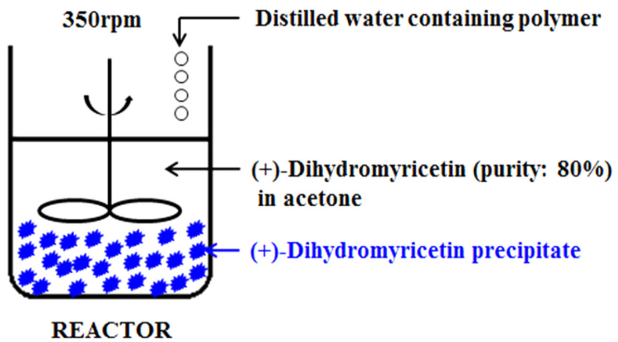

Fig. 2. Schematic diagram of fractional precipitation with a polymer for decreasing particle size of (+)-dihydromyricetin. The distilled water/acetone solution ratio, crude (+)-dihydromyricetin concentration in acetone and stirring speed were 5/1 (v/v), 0.1 g/mL and 350 rpm, respectively.

2-5. Zeta potential 측정

세 종류의 고분자 물질(HPMC 2910, PVP-K90, PVA)를 이용한 분별침전 공정에서 zeta potential 값 변화를 측정하였다. ELS-Z (Photal, Japan)를 이용하여 zeta potential을 측정하였으며 측정된 zeta potential은 ELS-Z software를 사용해 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 친수성 고분자 물질 첨가에 따른 영향

생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin 의 입자크기 감소를 위하여, 기존 문헌[9,21,22]에서 원료의약품의 입자크기 감소에 효과적인 세 종류의 고분자 물질(HPMC 2910, PVP K90, PVA)를 이용하여 분별침전을 수행하였다. (+)-Dihydromyricetin 분별침전 공정에서 분별침전이 완료되는데 걸리는 시간에 많은 차이가 있을 뿐만 아니라 분별침전에 많은 시간이 소요되어 (+)-dihydromyricetin의 대량 분리 및 정제에 많은 한계가 있었다[18,19]. 본 연구에서 분별침전을 위해 (+)-dihydromyricetin (순도: 80%)을 아세톤에 녹인 후 증류수만을 이용하여 분별침전을 수행하였을 경우(고분자물질을 첨가하지 않은 경우), Fig. 3에서 보는 바와 같이 분별침전 24 시간 이상부터는 입자크기에 큰 차이가 없었다. 또한 분별침전 24 시간 이내에 대부분의 (+)-dihydromyricetin 회수가 가능하였다[9]. 따라서 본 연구를 위한 모든 분별침전은 최대 24 시간까지만 수행하였다.

고분자 물질 PVP K90을 첨가한 경우와 대조군(고분자 물질을 첨가하지 않은 경우)에 대해 분별침전 과정에서 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기 변화를 Fig. 4(A)에 나타내었다. 대조군(control)의 경우, 분별침전 6, 12, 18, 24 시간 일 때 입자크기가 각각 116, 136, 160, 176 μm이었다. 침전물 입자는 원형에 가까운 둥근 형태로 침전시간이 경과함에 따라 입자가 더 성장하는 양상을 보였다. 기존 문헌[18,19]에 의하면 고분자 물질을 첨가하지 않은 경우 분별침전 시간이 경과할수록 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자 크기가 커지는 경향과 일치함을 알 수 있었다. 분별침전 6, 12, 18, 24 시간에서 입자크기는 고분자 물질 PVP K90 0.05% (w/v)를 첨가한 경우에는

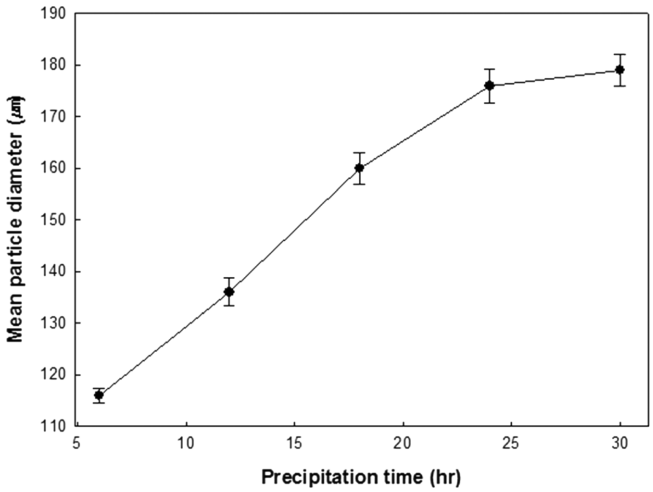

Fig. 3. Change of the size of (+)-dihydromyricetin precipitate through precipitation time in fractional precipitation. The (+)-dihydromyricetin concentration in acetone, distilled water/acetone solution ratio, pH, and stirring speed were 0.1 g/mL, 5/1 (v/v), 9.00 and 350 rpm, respectively.

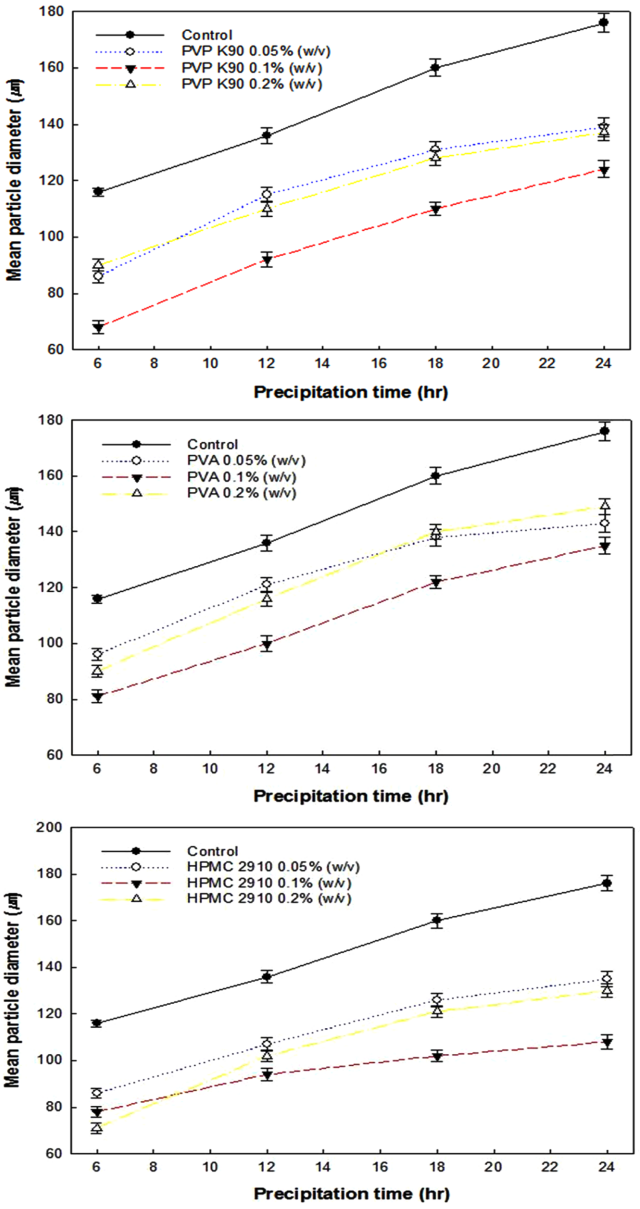

Fig. 4. Effect of polymer concentration on the particle size of (+)-dihydromyricetin during fractional precipitation: (A) PVP K90; (B) PVA; (C) HPMC 2910. The (+)-dihydromyricetin concentration in acetone, distilled water/acetone solution ratio, pH, and stirring speed were 0.1 g/mL, 5/1 (v/v), 9.00 and 350 rpm, respectively.

86, 115, 131, 139 μm, PVP K90 0.1% (w/v)를 첨가한 경우에는 68, 92, 110, 124 μm, PVP K90 0.2% (w/v)를 첨가한 경우에는 90, 110, 128, 137 μm이었다. 대조군과 비교해 보면 침전물의 모양은 비슷하지만 고분자 물질이 첨가된 경우 좀 더 원형에 가까운 형태의 침전물들이 생기는 경향이 있었고 침전시간이 길어질수록 입자크기가 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 전반적으로 고분자 물질 PVP K90을 첨가한 경우, 농도에 관계 없이 대조군에 비해 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기가 감소하였음을 알 수 있었다. 입자크기는 대조군에 비해 PVP K90 농도 0.05%, 0.1%, 0.2% (w/v)에서 각각 21-39, 44-52, 26-39 μm 정도 감소하였다. PVP K90의 농도가 0.1% (w/v)에서 입자크기가 가장 많이 감소하였다.

고분자 물질 PVA를 첨가한 경우와 대조군에 대해 분별침전 과정에서 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기 변화를 Fig. 4(B)에 나타내었다. 분별침전 6, 12, 18, 24 시간에서 입자의 크기는 고분자 물질 PVA 0.05% (w/v)를 첨가한 경우에는 96, 121, 138, 143 μm, PVA 0.1% (w/v)를 첨가한 경우에는 81, 100, 122, 135 μm, PVA 0.2% (w/v)를 첨가한 경우에는 90, 116, 140, 149 μm이었다. 부채꼴 모양으로 입자들이 조밀하게 침전되었고 PVP K90과 같이 농도와는 무관하게 침전시간이 길어질수록 입자크기가 증가하였다. 입자크기는 대조군에 비해 PVA 농도 0.05%, 0.1%, 0.2% (w/v)에서 각각 15-33, 35-41, 20-27 μm 정도 감소하여 고분자 물질 PVA을 첨가한 경우가 대조군에 비해 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기가 감소하였다. PVA의 농도 0.1% (w/v)에서 입자크기가 가장 많이 감소하였지만 고분자 물질 PVP K90에 비해 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기 감소율은 작았다.

고분자 물질 HPMC 2910을 첨가한 경우와 대조군에 대해 분별침전 과정에서 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기 변화를 Fig. 4(C)에 나타내었다. 분별침전 6, 12, 18, 24 시간에서 입자의 크기는 고분자 물질 HPMC 2910 0.05% (w/v)를 첨가한 경우에는 86, 107, 126, 135 μm, HPMC 2910 0.1% (w/v)를 첨가한 경우에는 78, 94, 102, 108 μm, HPMC 2910 0.2% (w/v)를 첨가한 경우에는 71, 102, 121, 130 μm이었다. 원형으로 입자들이 침전되었고 농도와는 무관하게 침전시간이 길어질수록 입자 크기가 증가하였다. 전반적으로 고분자 물질 HPMC 2910을 첨가한 경우가 대조군에 비해 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기가 감소하였다. 입자크기는 대조군에 비해 HPMC 2910 농도 0.05%, 0.1%, 0.2% (w/v)에서 각각 29-41, 38-68, 34-46 μm 정도 감소하였다. 결과적으로 HPMC 2910의 농도 0.1% (w/v)에서 가장 작은 (+)-dihydromyricetin 침전물을 얻을 수 있었으며, 입자크기는 대조군의 32-40% 수준이었다. 고분자 물질 HPMC 2910 농도 0.1% (w/v)까지는 입자크기가 감소하다 이후 입자크기가 오히려 증가하는 경향을 보였다.

이상의 결과로부터 고분자물질(PVP K90, PVA, HPMC 2910)을 첨가한 경우 대조군에 비해 더 작은 입자의 (+)-dihydromyricetin을 얻을 수 있었다. 이러한 현상은 첨가된 고분자 물질이 고체-액체 계면의 표면장력을 낮추고 (+)-dihydromyricetin의 핵 생성 속도를 증가시키는 반면 핵 성장을 저해하여 입자크기가 작아지는 것으로 판단된다[22]. 또한 고체-액체 계면에 고분자 물질의 흡착은 새로 생성되는 소수성 표면의 계면장력을 감소시키고 공간적 또는 정전기적 안정화를 제공하여 핵 성장을 저해하게 된다. 분별침전 후 (+)-dihydromyricetin 순도(90.0±1.0%) 및 수율 (>83±2%)은 거의 변화가 없었으며 이러한 현상은 기존의 연구결과와도 유사함을 알 수 있었다[17-19]. 특히 고분자 물질 HPMC 2910이 분별침전 과정에서 (+)-dihydromyricetin 침전물의 크기 감소 효과가 가장 좋았는데, 이러한 결과는 (+)-dihydromyricetin 입자와 HPMC 2910의 높은 친화력으로 인해 입자의 성장 저해에 가장 효과적이기 때문으로 판단된다[9]. 고분자 물질과 (+)-dihydromyricetin 입자와의 친화력이 증가할수록 (+)-dihydromyricetin 입자 성장 저해에 더 효과적인 공간적 저해 요소 역할을 하기 때문에 침전물의 크기가 감소하게 된다. 실험에 사용된 모든 고분자 물질의 경우, 입자크기 감소를 위한 최적의 농도는 0.1% (w/v)이었는데, 이는 고분자물질의 농도가 일정량 이상이 되면 용액의 높은 점도로 인한 반용매(antisolvent)인 증류수를 향한 용매(아세톤)의 적절한 확산을 억제하기 때문으로 판단된다[9]. 높은 고분자 물질 농도에 따른 입자크기 증가 현상은 기존 문헌[9,23-25]에도 보고되었다. 기존문헌에 의하면, 항암물질 megestrol acetate는 고분자 물질 HPMC 2910 (0.2%, w/v) 첨가할 경우 대조군에 비해 2~4배 정도 입자크기가 감소하였다[9]. 항암물질 azithromycin는 고분자 물질 HPMC 2910 (0.35%, w/v) 첨가할 경우 대조군에 비해 2배 정도 입자크기가 감소하였다[26]. 항암물질 paclitaxel은 고분자 물질 HPMC 2910 (0.2%, w/v) 첨가할 경우 대조군에 비해 35% 정도 입자크기가 감소하였다[27]. 이처럼 동일한 고분자 물질을 첨가하여도 첨가 농도와 대상 제품, 침전 시 사용되는 용매에 따라 고분자 물질의 입자크기 감소 효과는 차이를 보였다. 또한 분별침전 시 이온교환수지(Amberlite 200)를 첨가한 경우에도 (+)-dihydromyricetin 입자크기 감소 효과는 고분자 물질을 첨가한 경우와 유사하나 별도의 추가 조업(분별침전 후 이온교환수지 제거) 및 비용(이온교환수지 비용)이 발생하는 문제점이 있다[18].

3-2. (+)-Dihydromyricetin 입자크기와 zeta potential의 관계

고분자 물질 첨가 유무와 고분자 물질 종류에 따른 분별침전 용액의 제타전위(zeta potential)를 측정하여 Fig. 5에 나타내었다. 대조군의 경우 분별침전 용액의 제타전위 값은 -14.75 mV이었다. 동일한 농도(0.1%, w/v)로 고분자 물질 PVA, PVP, HPMC를 각각 첨가하였을 경우 분별침전 용액의 제타전위 값은 각각 -17.67, -19.88, -23.21 mV로 나타났다. 분별침전 시 (+)-dihydromyricetin 의 입자크기와 용액의 제타전위 값을 비교해 보면, 입자크기가 작아질수록 제타전위 값이 커짐을 알 수 있었다. 분별침전에서 가장 작은 (+)-dihydromyricetin의 입자(108 μm)를 얻은 HPMC 2910 0.1% (w/v)의 경우 가장 큰 제타전위 값(-23.21 mV)을 나타내었다. 이러한 결과는 항암물질 paclitaxel의 분별침전 결과와도 유사한데, 분별침전에서 paclitaxel의 입자 크기(100.65 μm)가 가장 작게 나타난 HPMC 2910 0.2% (w/v)의 경우 가장 큰 제타전위 값(22.73 mV)을 나타내었다[27]. 즉 (+)-dihydromyricetin의 입자크기와 제타전위 값의 크기는 반비례 관계를 나타내어 분별침전 용액의 제타전위 절대값이 증가할수록 분별침전을 통하여 얻은 (+)-dihydromyricetin 침전물의 크기가 감소하였다. 제타전위 절대값이 큰 고분자 물질은 상호간의

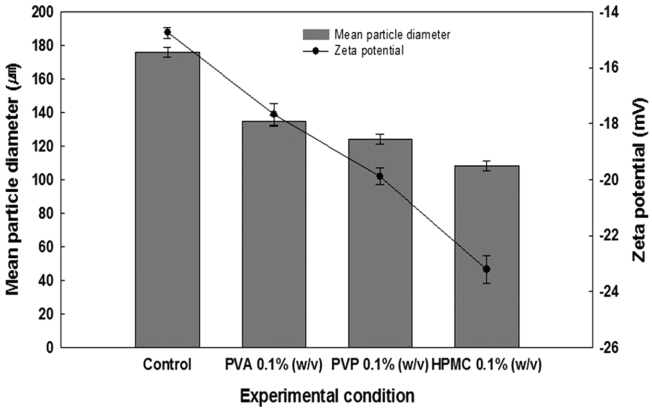

Fig. 5. The relationship between particle size of (+)-dihydromyricetin precipitate and zeta potential of reacting solution with polymer during fractional precipitation. The (+)-dihydromyricetin concentration in acetone, distilled water/acetone solution ratio, pH, precipitation temperature, precipitation time, and stirring speed were 0.1 g/mL, 5/1 (v/v), 9.00, 4 °C, 24 hr, and 350 rpm, respectively.

반발력이 강하여 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자 성장 과정에서 서로 뭉침 현상이 없어 안정되게 유지되어 더 효과적인 공간적 저해요소 역할을 하기 때문으로 판단된다[9,21].

4. 결 론

본 연구에서는 (+)-dihydromyricetin의 분별침전 공정에 친수성 고분자 물질을 첨가하여 침전물의 입자크기 감소 가능성을 평가하였다. 고분자 물질의 종류(HPMC 2910, PVP K90, PVA)와 농도(0.05, 0.1, 0.2%, w/v)를 달리하여 분별침전을 수행한 결과, 고분자 물질의 종류와 농도에 따라 침전물의 입자크기에 차이를 보였으며 모든 경우 대조군에 비해 입자크기가 감소하였다. 특히 분별침전 시 HPMC 2910 (0.1%, w/v)을 첨가할 경우, 대조군에 비하여 입자크기가 38~68 μm (32~40%) 정도 감소하여 입자크기 감소에 가장 효과적이었다. 또한 분별침전 시 침전물 (+)-dihydromyricetin의 입자크기와 침전용액의 제타전위 값은 반비례 관계를 나타내어 분별침전 용액의 제타전위 절대값이 증가할수록 분별침전을 통하여 얻은 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자크기가 감소하였다. 제타전위 절대값이 큰 고분자물질은 상호간의 반발력이 강하여 (+)-dihydromyricetin 침전물의 입자 성장 과정에서 서로 뭉침 현상이 없이 안정되게 유지되어 더 효과적인 공간적 저해 요소 역할을 하기 때문으로 판단된다. 이러한 연구결과는 (+)-dihydromyricetin의 활용도 향상뿐만 아니라 효과적 건조에도 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

감 사

이 논문은 2015년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업의 결과물입니다(과제번호: 2015016271).

References

1. An, S. W., Kim, Y. G., Kim, M. H., Lee, B. I., Lee, S. I., Lee, S. H., Kwon, H. I., Hwang, B. and Lee, H. Y., "Comparison of Hepatic Detoxification Activity and Reducing Serum Alcohol Concentration of *Hovenia dulsis* Thunb and *Alnus japonica* Steud," *Korean J. Medicinal Crop Sci*., **7**, 263-268(1999).
2. Hase, K., Basnet, P., Kadota, S. and Namba, T., "Effect of *Hovenia dulcis* on Lipopolysaccharide-Induced Liver Injury in Chronic Alcohol-Fed Rats," *J. Trad. Med*., **14**, 28-33(1997).
3. Lee, M. K., Kim, Y. G., An, S. W., Kim, M. H., Lee, J. H. and Lee, H. Y., "Biological Activities of *Hovenia dulcis* Thunb," *Korean J. Medicinal Crop Sci*., **7**, 185-192(1999).
4. Sakai, K., Yamane, T., Saitoh, Y., Ikawa, C. and Nishihata, T., "Effect of Water Extracts of Crude in Decreasing Blood Ethanol Concentrations in Rats," *Chem. Pharm. Bull*., **35**, 4597-4604(1987).
5. Yoo, S. M., Mun, S. and Kim, J. H., "Recovery and Pre-purification of (+)-Dihydromyricetin from *Hovenia dulcis*," *Process Biochem*., **41**, 567-570(2006).
6. Du, Q., Cai, W., Xia, M. and Ito, Y., "Purification of (+)-Dihydromyricetin from Leaves Extract of *Ampelopsis grossedentata* Using High-Speed Countercurrent Chromatograph with Scale-up Triple Columns," *J. Chromatogr. A.*, **973**, 217-220(2002).
7. Yohsikawa, M. and Murakami, T., "Four Methyl-Migrated 16, 17-seco-Dammarane Triterpene Glycosides from Chines Natural Medicine, Hoveniae Semen Seu Fructus, the Seeds and Fruit of *Hovenia dulcis* Thunb," *Chem. Pharm. Bull*., **44**, 1736-1743 (1996).
8. Yohsikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Yoshizumi, S., Ninomiya, K., Murakami, N., Matsuda, H., Satio, M., Fujii, W. and Tanaka, T., "Bioactive Constituents of Chinese Natural Medicines. III. Absolute Stereostructures of New Dihydroflavonols, Hovenitins I, II, and III, Isolated from Hoveniae Semen Seu Fructus, the Seed and Fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae): Inhibitory Effect on Alcohol-Induced Muscular Relaxation and Hepatoprotective Activity," *Yakugaku Zasshi.*, **117**, 108-118(1997).
9. Cho, E. B., Cho, W. K., Cha, K. H. and Park, J. S., "Enhanced Dissolution of Megestrol Acetate Microcrystals Prepared by Antisolvent Precipitation Process Using Hydrophilic Additives," *Int. J. Pharm*., **396**, 91-98(2010).
10. Yeo, S. D., Kim, M. S. and Lee, J., "Recrystallization of Sulfathiazole and Chloropropaide Using the Supercritical Fluid Antisolvent Process," *J. Supercrit Fluids*. **25**, 143-154(2003).
11. Pyo, S. H., Kim, M. S., Cho, J. S., Song, B. K., Han, B. H. and Choi, H. J., "Efficient Purification and Morphology Characterization of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus chinensis*," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **79**, 1162-1168(2005).
12. Ruala, J., Eerikaine, H. and Kauppinen, E. I., "Influence of the Solvent Composition on the Aerosol Synthesis of Pharmaceutical Polymer Nanoparticles," *Int. J. Pharm.* **284**, 13-21(2004).
13. Chen, X., Young, T. J., Sarkari, M., Williams III, R. O. and Johnston, K. P., "Preparation of Cyclosporine A Nanoparticles by Evaporative Precipitation into Aqueous Solution," *Int. J. Pharm*. **242**, 3-14(2002).
14. Vehring, R., "Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying," *Pharm. Res*., **25**, 999-1022(2008).
15. Weers, J. G., Tarara, T. E. and Clark, A. R., "Design of Fine Particles for Pulmonary Drug Delivery," *Expert Opin. Drug Deliv*., **4**, 297-313(2007).
16. Kawashima, Y. and York, P., "Drug Delivery Application of Supercritical Fluid Technology," *Adv. Drug Deliv. Rev*., **60**, 297-298(2008).
17. Lee, K. H. and Kim, J. H., "Development and Optimization of Fractional Precipitation for the Pre-purification of (+)-Dihydromyricetin," *Biotechnol. Bioproc. Eng*., **13**, 274-278(2008).
18. Lim, M. K. and Kim, J. H., "Improvement of the Fractional Precipitation Process for the Purification of (+)-Dihydromyricetin," *Korean J. Biotechnol. Bioeng*., **42**, 25-31(2014).
19. Ha, G. S. and Kim, J. H., "Influence of Zeta Potential on Fractional Precipitation of (+)-Dihydromyricetin," *Korean Chem. Eng. Res*., **53**, 831-835(2015).
20. Dong, Y., Ng, W. K., Shen, S., Kim, S. and Tan, R. B., "Preparation and Characterization of Spironolactone Nanoparticles by Antisolvent Precipitation," *Int. J. Pharm*., **375**, 84-88(2009).
21. Zhang, H. X., Wang, J. X., Zhang, Z. B., Le, Y., Shen, Z. G. and Chen, J. F., "Micronization of Atorvastatin Calcium by Antisolvent Precipitation Process," *Int. J. Pharm*., **374**, 106-113(2009).
22. Dalvi, S. V. and Dave. R. N., "Controlling Particle Size of a Poorly Water-Soluble Drug Using Ultrasound and Stabilizers in Anti-

solvent Precipitation," *Ind. Eng. Chem. Res*., **48**, 7581-7593(2009).
23. Labouret, A. D., Thioune, O., Fessi, H., Devissaguet, J. P. and Puisieux, F., "Application of an Original process for Obtaining Colloidal Dispersions of Some Coating Polymers. Preparation, Characterization, Industrial Scale-Up," *Drug Dev. Ind. Pharm*., **21**, 229-241(1995).
24. Stainmesse, S., Orecchioni, A. M., Nakache, E., Puisieux, F. and Fessi, H., "Formation and Stabilization of a Biodegradable Polymeric Colloidal Suspension of Nanoparticles," *Colloid Polym. Sci*., **273**, 505-511(1995).
25. Thioune, O., Fessi, H., Devissaguet, J. P. and Puisieux, F., "Preparation of Pseudolatex by Nanoprecipitation: Influence of the Solvent Nature on Intrinsic Viscosity and Interaction Constant," *Int. J. Pharm*., **146**, 233-238(1997).
26. Pouretedal, H. R., "Preparation and Characterization of Azithromycin Nanodrug Using Solvent/Antisolvent Method," *Int. Nano Lett*., **4**, 103(2014).
27. Kim, M. J. and Kim, J. H., "Decreasing Particle Size of Paclitaxel Using Polymer in Fractional Precipitation Process," *Korean Chem. Eng. Res*., **54**, 278-283(2016).