

세파로틴 나트륨의 결정형이 용출과 안정성에 미치는 영향

손영택* · 박선희

덕성여자대학교 약학대학

(Received March 10, 1997)

Effects of Crystal Modification of Cephalothin Sodium on Dissolution and Stability

Young Taek Sohn* and Sun Hee Park

College of Pharmacy, Duksung Womens University, Seoul 132-714, Korea

Abstract - Investigation of polymorphism has become a requirement in the pharmaceutical industry because the physical properties and bioavailabilities of crystalline drugs depend on their polymorphic form. Five polymorphic modifications and one pseudopolymorphic modification of cephalothin sodium were prepared by recrystallization, and characterized by UV spectrophotometer, DSC, TGA and X-ray crystallography. The solubilities of all modifications were examined by the dissolution test. Form 4 and 1 showed higher solubilities than any other crystal forms. The modifications were also investigated for their stability after storage of 2 months at 100%, 76%, 52% and 0% humidity.

Keywords □ Cephalothin sodium, Polymorphism, Pseudopolymorphism, DSC, X-ray crystallography, TGA, Dissolution, Humidity, Stability, Recrystallization.

Tablet 등의 고형제제가 인체내에 투여되면 붕해, 용출의 과정을 거쳐 흡수되어 약효를 나타내게 된다. 이 과정 중 유효단계는 용출과정이라고 규명되었고 따라서 용출에 영향을 미치는 factor들은 혈중농도에 영향을 주게 되므로 약제학 분야 연구의 주 관심대상이다.¹⁻²⁾

따라서 수 많은 연구가 이에 집중되어 왔으며, 그 중 한가지가 polymorphism과 pseudopolymorphism을 이용하는 것이다.³⁻⁶⁾ 각각의 form들은 용해도와 안정성에 차이가 있으며 더불어 생체이용률의 변화가 수반된다.⁷⁻⁸⁾ 결국 polymorphic modification을 제조함으로써 기존에 사용되던 약물의 bioavailability 및 stability를 향상시킬 수도 있다.

Cephalothin sodium은 그램양성균과 그램음성균

및 스피로헤테타 모두에 효과가 있는 광범위 항생물질로서 Pikal등에 의해 polymorphism이 보고된 바 있다.⁹⁾

저자들은 cephalothin sodium의 용해도를 증가시킬 목적으로 다양한 용매와 다양한 외부 조건의 변화로 재결정을 하거나 용융시키는 방법 등을 사용하여 cephalothin sodium의 polymorphic modification (form)을 제조하고, 그 각각의 안정성, 용해도 등을 실험하고자 하였다. 각 modification의 확인을 위하여 DSC, UV spectrophotometry, TGA, X-ray crystallography 등을 이용하였다.

실험방법

시약 - 본 연구의 대상물질은 cephalothin sodium이며 water 및 methanol은 HPLC용 특급시약을, 나머지 기타 시약도 모두 특급을 사용하였다. 종류

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-901-8385 (팩스) 02-901-8386

수는 Millipore Milli-Q™ Water System으로 제조하여 사용하였다.

기기 - 시차열 분석기(Differential scanning calorimeter)는 Mettler사의 DSC 12E를 사용하였고, UV/VIS spectrophotometer는 Hewlett Packard사의 8452A Diode-Array spectrophotometer를, X-ray crystallography는 Rigaku사의 DMAX-III를, TGA는 DuPont 2100을, Dissolution tester는 Erweka DT-D를 사용하였다.

각 form들의 제조 - form 1 : cephalothin sodium 시판품을 그대로 사용하였다.

form 2 : cephalothin sodium 2.31 g을 7.5 ml의 water에 가열하면서 완전히 용해시키고, 이 용액에 absolute ethanol 35 ml를 가하여 30분간 stirring하였다. 이것을 차광하여 -20°C에서 24시간 방치한 다음 absolute ethanol로 세척하면서 여과하고, 실리카겔 데시케이터에서 건조하였다.

form 3 : 시판품 0.1g을 dichloroethane 30 ml에 넣고 60°C로 가열하면서 acetic acid 0.5 ml를 15분간 격으로 4회 가한다. 여과하여 여액을 시계접시위에 방치하여 결정을 취한다.

form 4 : methanol 140 ml에 시판품 0.2 g을 용해시킨 후 다시 0.2 g과 0.1 g을 차례로 넣고 stirring하여 완전히 용해시킨다. 이를 -20°C의 온도에서 차광하여 7일간 방치하고 시계접시 위에 방치하여 결정을 취한다.

form 5 : water 4 ml와 acetone 40 ml의 혼합용액에 시판품 1 g을 넣고 60°C로 가열하면서 1시간 stirring한다. water 1 ml를 추가로 가하여 완전히 용해시키고 dioxane 50 ml, 30 ml, 10 ml를 차례로 가하면서 계속 stirring 한다. 이를 여과하여 실리카겔 데시케이터에서 건조하여 결정을 취한다.

form 6 : dimethyl sulphoxide 15 ml에 시판품 2 g을 가한다. stirring하면서 용해시키고 이를 여과한다. 여액에 triethylamine 0.8 ml와 acetone 1.5 ml를 가한다. 다시 acetone 90 ml를 넣고 10분간 stirring한다. 이를 여과하여 감압상태의 room temperature에서 2시간 동안 건조하여 결정을 취한다.

각 form들의 확인 - 이상에서 제조한 각 form들에 대해서 UV spectrophotometer를 사용하여 파장 234 nm에서 최대의 흡광도를 가짐을 확인하였다. 또한 DSC, X-ray crystallography, TGA를 이용하여 확인

하였다.

〈시차열 분석조건〉

- sample : Al pan으로 sealing
- temperature : 40~250°C
- dT/dt : 10°C/min
- sampling interval : 1 second

〈X-ray crystallography 분석조건〉

- angle range : 10~70°
- 30 kV, 20 mA

〈TGA 분석조건〉

- temperature : 30~300°C
- dT/dt : 10°C/min

용출시험 - 입자의 분포를 고르게 하기 위하여 각 modification들을 사별법으로 취하고, 대한약전 제 6개정판 용출시험법의 제 1법인 검체통법으로 시험하였다. 시험액으로는 pH 6.8로 맞춘 1000 ml 증류수액을 사용하였고, 37±0.5°C, 300 rpm의 동일한 조건에서 일정 시간마다 1 ml의 시료를 취하고 미리 가온한 새로운 시험액을 동량 가하여 보충하였다. 채취시간은 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 20, 40, 60분 간격으로 하였다. 시험액을 blank로 하고 채취액의 234 nm에서의 UV 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량곡선으로부터 용출률을 산출하였다.

보관중의 형전환시험 - cephalothin sodium의 polymorphic modification들을 상대습도 0% 실리카겔 데시케이터내, 상대습도 100%, 52%, 76%에서 각각 2개월간 보관한 후 형전환 여부를 시차열분석을 통해 검색하였다.

결과 및 고찰

결정형들의 확인 - 다양한 결정형을 얻기 위하여 용출법을 사용하여 cephalothin sodium 시판품을 용출시킨 후 여러 냉각속도로 냉각시켜 결정형을 제조한 후 DSC로 측정해 보았으나 form 1이외의 다른 결정형을 제조할 수 없었다. 재결정법으로 결정형을 얻기 위하여는 용매의 극성에 따라 다른 결정형의 면이 특별히 강조되는 결정형을 얻을 수 있으므로 단일용매로는 water, ethanol, methanol, butanol, propyl alcohol, amyl alcohol, acetonitrile, ethylacetate, dichloroethane, acetone, dioxane, dimethyl sulfoxide, triethylamine등의 용매에 용해시켜 재결정을 제조하

였고 혼합용매로는 이상의 용매들을 여러 혼합비(1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1)로 혼합한 용매들에 용해시켜 재결정을 제조하여 이들을 DSC로 측정하여 시판품과 다른 결정형을 얻을 수 있는지를 실험하였으며 Pikal등의 논문⁹⁾을 참고로 하여 재결정법으로 결정을 제조하였다.

제조된 각 form들을 UV scanning한 결과 234 nm에서는 thienyl part를 나타내는 peak가 나타나고 266 nm에서는 fused ring system인 7-aminocephalosporanic acid를 나타내는 peak가 나타나 화학적으로 변화가 일어나지 않았음을 확인하였다.

시차열분석을 행하였을 때 시판품인 form 1의 경우 214.8°C에서 exothermic peak가 나타나고(Fig. 1)

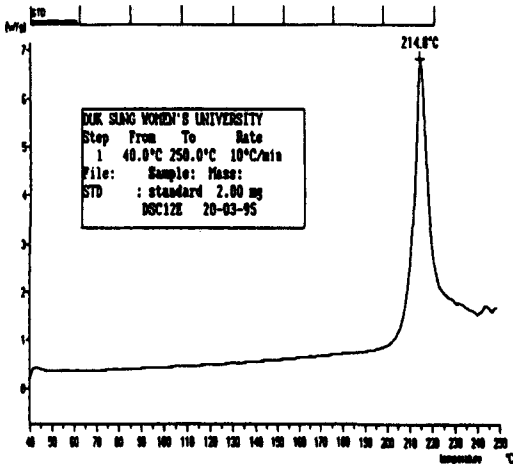


Fig. 1 — DSC curve of form 1.

form 2의 경우 127.5°C에서 endothermic peak가, 198.2°C에서는 작은 exothermic peak가, 223.3°C에서는 큰 exothermic peak가 나타난다(Fig. 2). TGA data(Fig. 7)에서는 H₂O 1분자가 빠져나감으로서 120°C에서 H₂O 1분자에 해당하는 4%의 중량 감량이 나타나며 이는 DSC curve의 endothermic peak로도 확인된다.

form 3의 경우는 152.3°C에서 endothermic peak가, 207.6°C에서는 exothermic peak가 나타난다(Fig. 3). form 4는 181.5°C에서 작은 exothermic peak가, 209.4°C에서 큰 exothermic peak가 나타난다(Fig. 4). form 5는 107.4°C에서 endothermic peak가 나타나고, 174.9°C, 204.1°C, 210.4°C에서 각

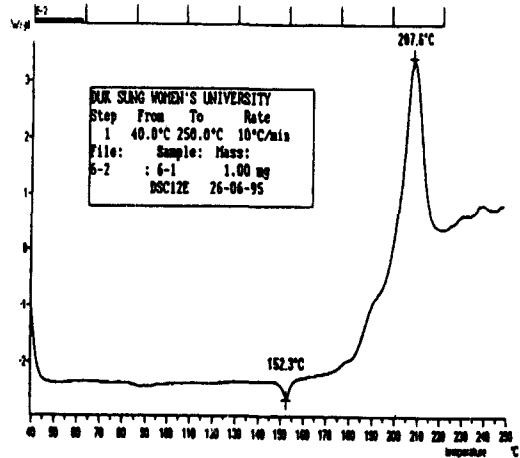


Fig. 3 — DSC curve of form 3.

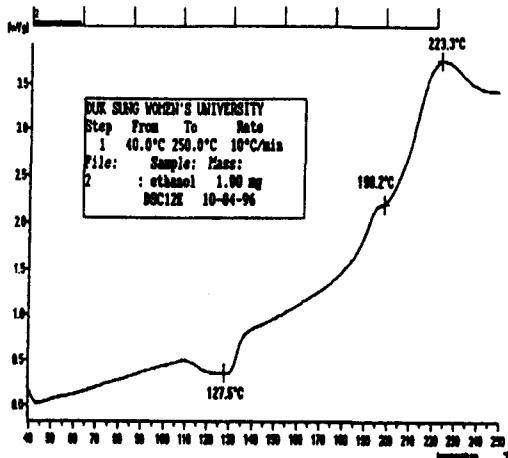


Fig. 2 — DSC curve of form 2.

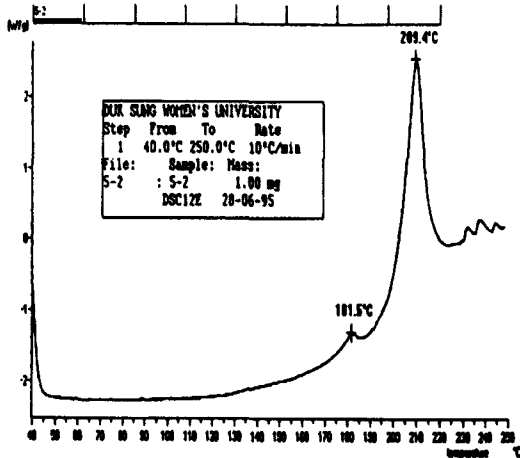


Fig. 4 — DSC curve of form 4.

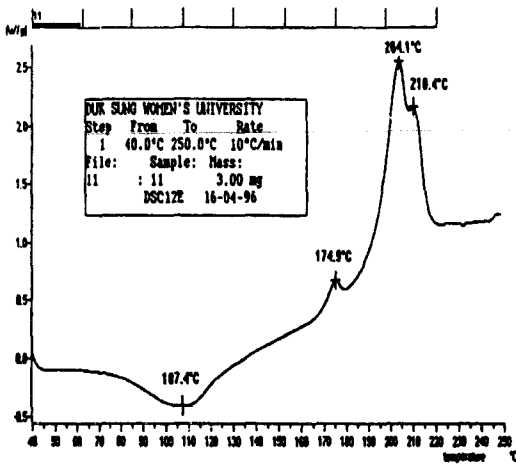


Fig. 5 — DSC curve of form 5.

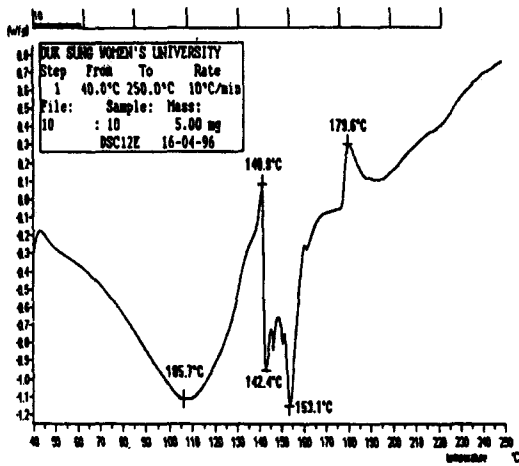


Fig. 6 — DSC curve of form 6.

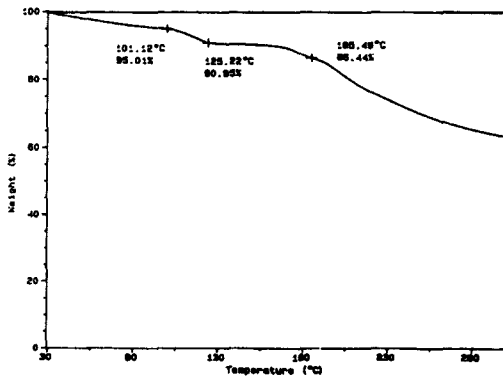


Fig. 7 — TGA curve of form 2.

각 크고 작은 exothermic peak가 나타난다(Fig. 5). TGA data로 보아 H₂O 분자는 없는 것으로 확인된다

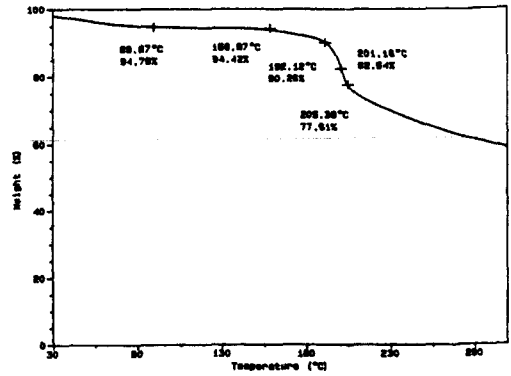


Fig. 8 — TGA curve of form 5.

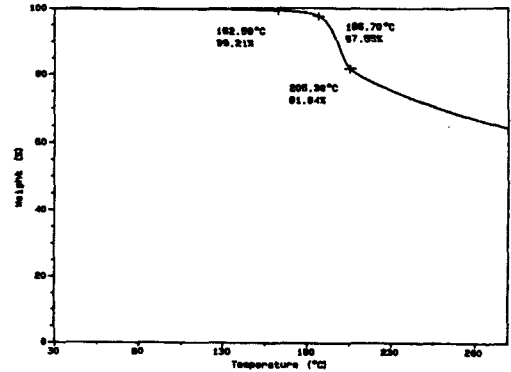


Fig. 9 — TGA curve of form 6.

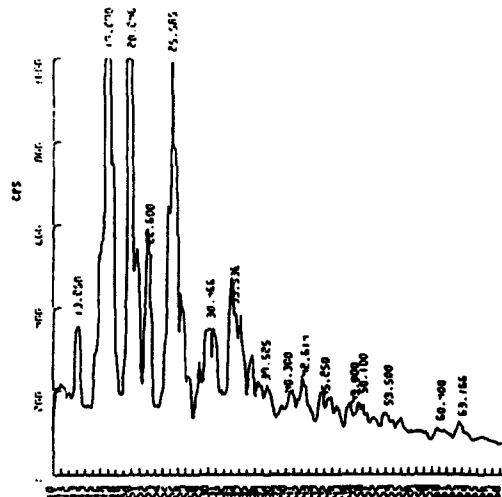


Fig. 10 — X-ray crystallographic pattern of form 1.

(Fig. 8). form 6의 경우는 105.7°C, 142.4°C, 153.1°C에서 endothermic peak가, 140.9°C, 179.6°C에서 exothermic peak가 나타난다(Fig. 6). TGA data에

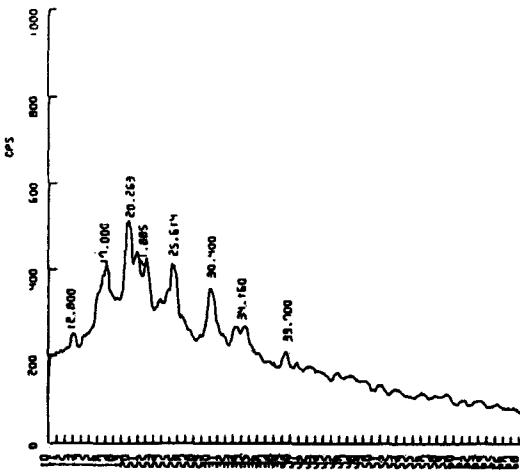


Fig. 11—X-ray crystallographic pattern of form 2.

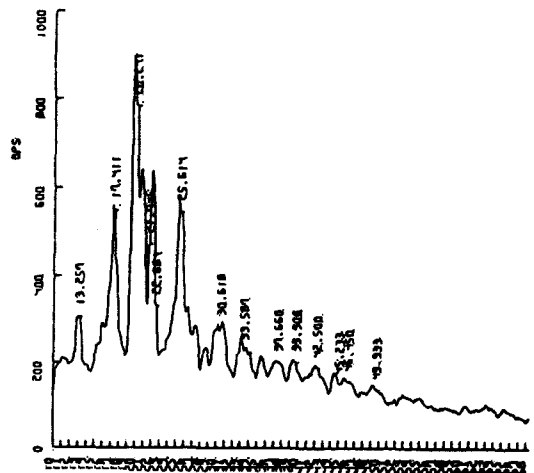


Fig. 13—X-ray crystallographic pattern of form 4.

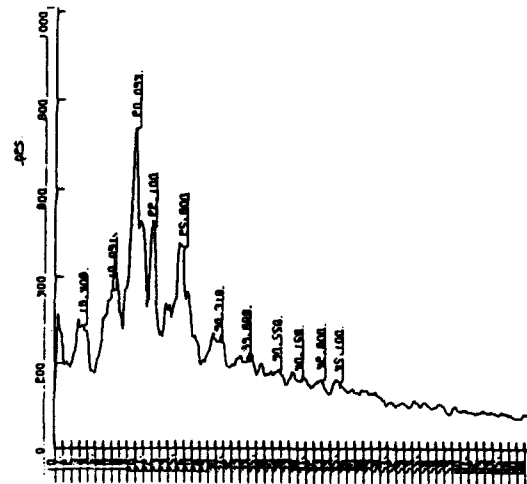


Fig. 12—X-ray crystallographic pattern of form 3.

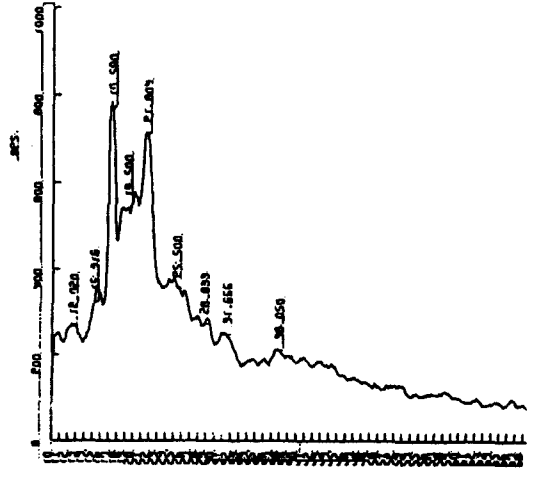


Fig. 14—X-ray crystallographic pattern of form 5.

서는 별다른 특징을 발견하지 못했다(Fig. 9). 각 form들의 X-ray pattern은 Fig. 10~15에 나타내었으며 이로써도 polymorphic modification들의 차이를 확인할 수 있었다.

용출시험 - 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 20, 40, 60분 간격으로 측정하여 그 용출률을 Fig. 16에 나타내었다. 60분까지의 용출률을 비교해보면 form 1이 99.9%, form 2가 75.6%, form 3가 94.3%, form 4가 100%, form 5가 83.0%, form 6가 99.3%를 나타내었다. Fig. 16에서 보는 바와 같이 form 4와 form 1이 가장 빠른 용출을 나타내었으나 처음 10분까지는 form 1이 더 빨리 용출되었으며 form 6 > form 3 > form 5 > form 2의 순으로 용출이 감소되었다.

수화물이 무수물보다 용출속도가 느다는 보고¹⁰⁾와 부합되는 결과를 보여 다른 연구결과들¹¹⁻¹⁴⁾과는 다른 결과를 보여 주었으며 따라서 수화물과 무수물의 용출속도에 관하여는 앞으로도 더욱 연구되어야 하리라고 생각된다.

보관중의 형전환시험 - 각 polymorphic modification들을 상대습도 0% 실리카겔 데시케이터에서 2개월간 보관한 결과 형전환은 관찰되지 않았다. 상대습도 100%에서 보관시험한 것은 2일후 물을 많이 흡수해 거의 조해해서 형전환여부를 관찰할 수 없었다. 상대습도 52%와 76%에서 각각 2개월간 보관한 결과 form 1, 3, 4, 5, 6은 형전환 여부를 관찰할 수 없었고 form 2는 2일 경과한 후 흡수하여 조해되었다.

- nations for β -Lactam Antibiotics by Solution Calorimetry: Correlations with Stability. *J. Pharm. Sci.* **67**, 767 (1978).
- 10) Otsuka, M., Teraoka, R. and Matsuda, Y. : Physicochemical properties of nitrofurantoin anhydrate and monohydrate and their dissolution. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2667 (1991).
- 11) Poole, J. W. and Bahal, C. K. : Dissolution behavior and solubility of anhydrous and trihydrate forms of ampicillin. *J. Pharm. Sci.* **57**, 1945 (1968).
- 12) Sohn, Y. T. and Kim, K. S. : Study on polymorphism of cimetidine. *J. Kor. Pharm. Sci.* **23**, 81 (1993).
- 13) Sohn, Y. T. : The effects of pseudopolymorphism on the relative bioavailability of amoxicillin. *Yakhak Hoeji* **39**, 438 (1995).
- 14) Sohn, Y. T. and Lee E. H. : Crystal forms of cefazolin sodium hydrates. *Yakhak Hoeji* **40**, 306 (1996).