

세파클러의 결정형

손영택[†] · 전임작

덕성여자대학교 약학대학
(2000년 6월 28일 접수)

Crystal Forms of Cefaclor

Young Taek Sohn[†] and Im Jak Jeon

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

(Received June 28, 2000)

ABSTRACT—Three new polymorphic modifications were prepared by recrystallization under various conditions and characterized by DSC and X-ray crystallography. In pH 4.0 buffer at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, the polymorphic modifications showed significant differences in the dissolution rate. The dissolution rate of Mod. 4, amorphous form, was faster than that of marketed cefaclor (Mod. 1). When all modifications were stored at 52% RH, 95% RH and in silica gel desiccator, any polymorphic transformation was not observed.

Keywords—Cefaclor, Polymorphism, DSC, X-ray crystallography, Dissolution, Crystal form

하나의 화학물질이 한가지 이상의 결정격자 배열을 가질 수 있는 현상을 polymorphism이라 하며, 각각의 결정 구조들을 modification, form이라 한다.¹⁻⁵⁾ Polymorphism은 결정의 외부형태인 crystal habit이 아닌 결정의 내부 구조의 차이를 의미하는 것으로, 각 polymorphic modification들은 결정격자 내에서의 분자간의 거리가 다르므로^{6,7)} 용점이 각기 다르며 용해도, 용출속도, 진밀도, 결정 형태, 증기압, 고체상태에서의 안정성 등의 물리화학적 성질이 다르게 나타난다.^{8,9)} polymorphic modification들은 화학적으로 동일한 물질이기 때문에 약리효과는 동일하나 위에서 언급한 물리적인 성상이 다르기 때문에 이를 이용하여 물성개선연구가 활발하게 이루어지고 있다. 본 연구실에서는 cephalosporin계 항생물질의 다형에 대하여 계속 연구하여 왔으며¹⁰⁻¹⁴⁾ cefaclor는 제2세대 cephalosporin계 항생물질로서 ampicillin내성균을 포함한 *H. influenzae*를 억제하는 작용이 우수하며, 상기도 및 하기도 감염에 가장 많이 사용되는 경구용 항생제¹⁵⁾이다. 이를 model substance로 하여 polymorphic modification들을 제조하고 DSC,¹⁶⁻²⁰⁾ X-ray diffractometer¹⁸⁻²²⁾등을 이용하여 polymorphic modification들을 확인하였으며 그 각각의 용출속도를 측정하여 polymorphic modification들의 용출의 차이를 연구하였다.

실험방법

시약 및 기기

Cefaclor는 (주)한국필리에서 기증 받아 사용하였으며 기타 시약은 모두 특급시약을 사용하였고 물은 3차 증류수를 사용하였다.

기기로는 differential scanning calorimeter(DSC)는 Mettler DSC 12E, X-ray crystallography powder diffractometer는 Rigaku DMAX-III A, dissolution tester는 Erweka DT-D, UV/VIS spectrophotometer는 Hewlett Packard 8452A diode-array spectrophotometer, 3차 증류수 제조에는 Millipore Milli-QTM water system을 사용하였다.

각 modification들의 제조

Modification(이하 Mod.로 약칭) 1: 시판품을 실온, silica gel desiccator에 보관하면서 사용하였다.

Mod. 2: Mod. 1을 습도 55%하에서 $30 \sim 40^\circ\text{C}$ 의 absolute ethanol: water = 5 : 2 혼합용매에 용해시켜 포화용액으로 하였다. 온시에 상압여과하고 여액을 -20°C 에서 48시간 동안 보관하였다. 실온에서 해동하여 흡인여과하고 결정을 absolute ethanol: water = 5 : 2 혼합용매로 세척한 후 silica gel desiccator에서 건조시켰다.

Mod. 3: Mod. 1을 습도 58%하에서 $60 \sim 70^\circ\text{C}$ 로 가온한 water : ethylene glycol = 1 : 1 혼합용매에 용해시키고 -70

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

Tel : 02)901-8385, E-mail : ytsohn@center.duksung.ac.kr

°C에서 24시간동안 보관하였다. 용액을 실온에서 해동하여 absolute ethanol에 한꺼번에 가하고 30분간 stirring하였다. 생성된 결정을 흡인여과하고 absolute ethanol로 세척한 후 silica gel desiccator에서 건조시켰다.

Mod. 4: Mod. 1을 습도 58%하에서 30~40°C의 water에 용해시키고 실온에서 24시간동안 방냉하였다. 용액을 -70°C에서 동결건조하였다.

각 modification들의 확인

UV scanning을 통해 각 modification들의 화학적 동일성을 확인하였으며 DSC 및 X-ray crystallography분석조건은 다음과 같다. DSC 분석은 공기를 주입한 aluminum crucible를 standard로 사용했으며 시료는 aluminum pan으로 sealing하였고 물은 냉매로 사용했으며 50~250°C의 온도범위에서 10°C/min의 heating rate로, 1 sec의 sampling interval로 측정하였다. X-ray crystallography는 시료를 5~50° angle zoom 범위에서 30 kV, 20 mA로 측정하였다.

용출시험

입자의 크기를 직경 250 μm 이하로 일정하게 한 후 검체를 10 mg씩 취하여 대한약전 제 7개정판 용출시험법의 제 1법 회전검체통법으로 시험하였다. pH 4.0 buffer(초산 초산나트륨 완충액) 1000 ml를 시험액으로 하고 37±0.5°C, 150 rpm 조건에서 시험하였다. 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50 및 60분에 2 ml씩의 시료를 취하고 미리 37°C로 가온한 동량의 시험액을 보충하였다. 시험액을 blank로 하여 264 nm에서 채취액의 UV absorbance를 측정하고 미리 작성한 검량선으로부터 약물의 용출량을 산출하였다.

저장중의 형전환시험

각 modification들을 상대습도 52%, 상대습도 95%, silica gel desiccator에서 3개월간 보관 후 형전환 여부를 DSC와 X-ray crystallography로 확인하였다.

결과 및 고찰

각 modification들의 확인

제조된 각 modification들을 UV scanning한 결과 모두 264 nm에서 최대흡광도를 가지는 동일한 pattern을 나타내어 화학적으로 동일한 물질임을 알 수 있었다.

DSC분석결과, 시판품인 Mod. 1은 208.4°C에서 exothermic peak를 나타냈으며(Figure 1), Mod. 2는 194.1°C에서

(Figure 3), Mod. 3은 159.2°C에서 역시 exothermic peak를 나타냈다(Figure 5). Mod. 4는 무정형의 양상(Figure 7)을 나타내었다.

또, 각각의 modification들을 2θ 5~50° 범위에서 x-ray crystallography측정한 결과에 의해서도 역시 Mod. 1, Mod. 2, Mod. 3, Mod. 4는 서로 다른 결정형을 가지고 있는 polymorphic modification들이 입증되었다(Figures 2, 4, 6, 8).

용출시험

1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50 및 60분에 채취한 검체를 264 nm에서 UV absorbance를 측정된 결과로 산출한 약물의 용출량은 Figure 9와 같이 나타났다. 60분까지의 용출률은 시판품인 Mod. 1이 98.4%, Mod. 2는 94.6%, Mod. 3은 91.4%, Mod. 4가 98.2%로서 모든 modification들이 90% 이상의 높은 용출률을 보였다. 최종 용출률은 네 modification들 모두 비슷한 수준이었으나 초기용출률에서는 크게 차이가 있어서, 1분 후의 용출률이 Mod. 4 > Mod. 1 > Mod. 2 > Mod. 3 순

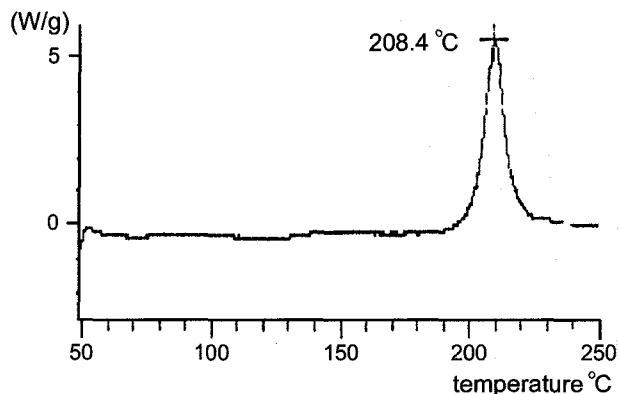


Figure 1—DSC curve of Mod. 1.

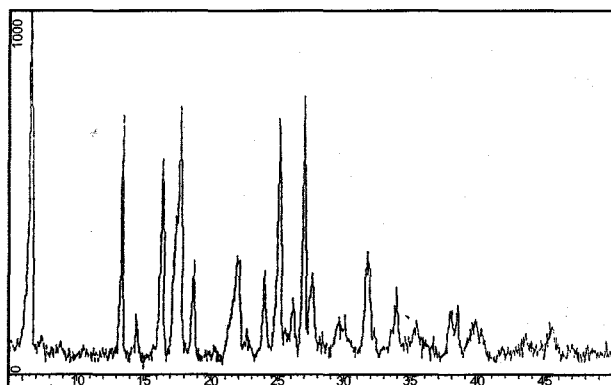


Figure 2—X-ray crystallographic pattern of Mod. 1.

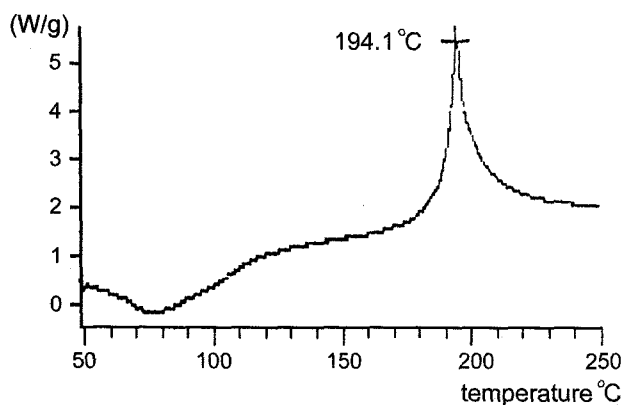


Figure 3-DSC curve of Mod. 2.

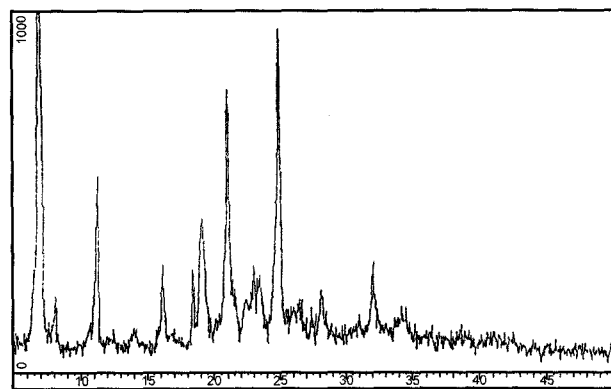


Figure 6-X-ray crystallographic pattern of Mod. 3.

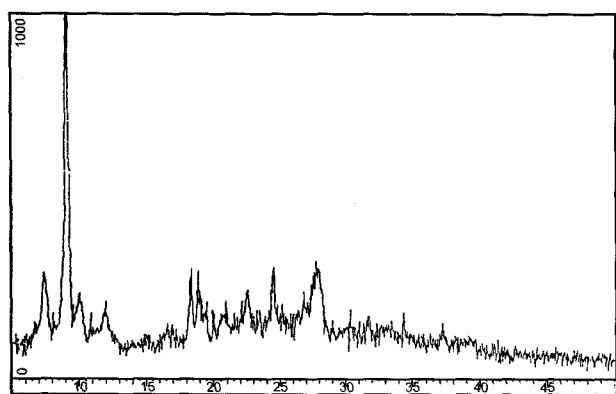


Figure 4-X-ray crystallographic pattern of Mod. 2.

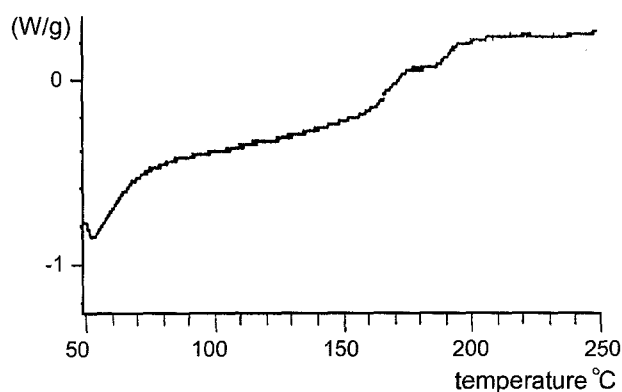


Figure 7-DSC curve of Mod. 4.

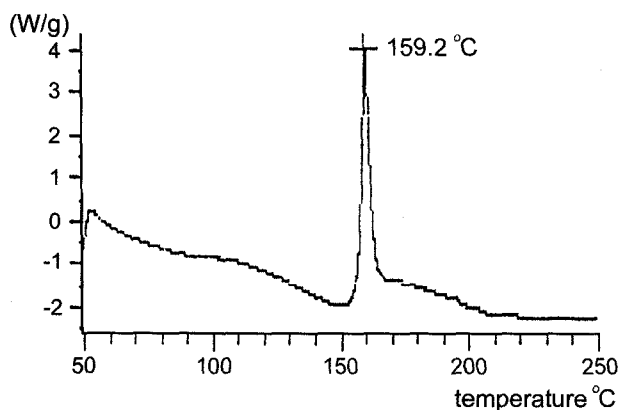


Figure 5-DSC curve of Mod. 3.

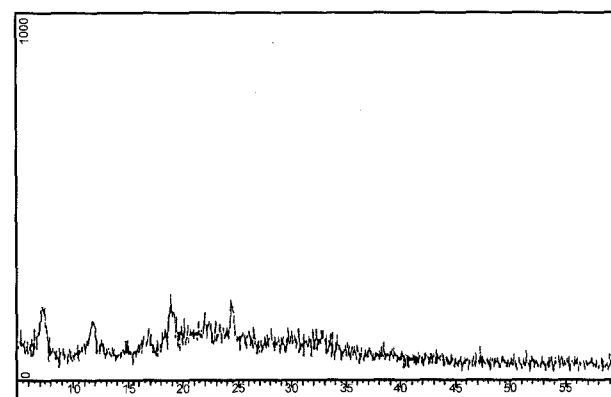


Figure 8-X-ray crystallographic pattern of Mod. 4.

으로 나타났다.

특히 Mod. 4의 경우에는 3분 후에 이미 90%를 초과하였다. 용출률 90%에 도달하는데 걸리는 시간은 Mod. 1이 5분, Mod. 2가 40분, Mod. 3이 50분, Mod. 4가 3분으로 나타났다.

저장중의 형전환시험

각 modification들의 제조당시와 3개월 보관시험 후의 DSC pattern과 X-ray crystallography pattern을 비교해본 결과, Mod. 1, Mod. 2, Mod. 3은 상대습도 52%와 상대습도 95%에서 DSC pattern의 뚜렷한 변화가 없었고 무정형인 Mod. 4의 경우 상대습도 52%에서는 별다른 변화가 없었으나 상대습도 95% 조건에서는 낮은 peak가 생성되어 결정화가 진행되고 있음을 확인하였다.

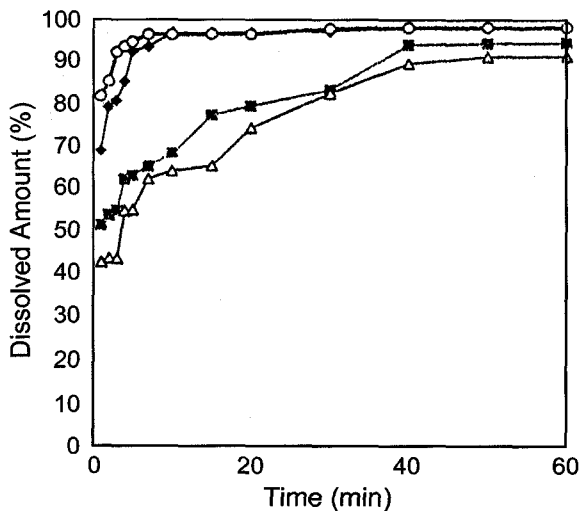


Figure 9—Dissolution behaviors of each polymorphic modification of cefaclor in pH 4.0 at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key: ◆: Mod. 1, ■: Mod. 2, △: Mod. 3, ○: Mod. 4.

결 론

용매의 종류와 혼합비, 온도, cooling rate를 달리하여 시판품 cefaclor 외에 세 가지의 polymorphic modification들을 제조할 수 있었다. 같은 제조방법, 같은 환경조건에서 반복 제조해 본 결과, 각 modification들은 재현성이 있는 것으로 판명되었다.

UV scanning 결과 화학적으로는 모두 동일하였으며 DSC, X-ray crystallography 분석결과로 네 가지 modification들이 서로 다른 결정격자 배열을 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

cefaclor가 가장 안정한 범위인 pH 4.0, $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 modification들의 용출시험을 시행한 결과, 60분 후의 용출률은 모두 90% 이상의 높은 용출률을 나타내었다. 무정형인 Mod. 4는 시판품인 Mod. 1보다 훨씬 빠른 용출률을 보였는데, 이는 무정형의 경우 결정분자 사이의 인력이 존재하지 않으므로 다른 modification 보다 빨리 용해된다는 이론과 일치한다. 용출시험을 시작한지 3분 후에 Mod. 1은 80.7%, Mod. 2는 54.5%, Mod. 3은 43.2% 용출된 것에 비해 Mod. 4는 이미 90%를 넘어서서 92.2%의 용출률을 나타내었다. 즉, Mod. 4는 시판품보다 빨리, Mod. 2와 Mod. 3은 시판품보다 느리게 용출되었다. 그러나 네 가지의 최종 용출률은 큰 차이가 없었다.

안정성을 알아보기 위한 보관시험에서, Mod. 1, Mod. 2, Mod. 3은 3개월 후까지 형전환을 일으키지 않았다. 각 modification 들을 silica gel desiccator, 상대습도 52%, 상대습도 95%에서 3개월간 보관하고 전후의 DSC pattern과 X-ray crystallography pattern을 비교한 결과 뚜렷한 변화를 찾

아볼 수 없었다. 단, 무정형인 Mod. 4의 경우 상대습도 95%에서 결정화가 진행중인 것을 확인할 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 1999년도 덕성여자대학교 교내연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Y. T. Sohn, Pharmaceutical application of polymorphism, *Pharmacon*, **21**, 500-516 (1981).
- 2) M. Kuhnert-Brandstaetter, Polymorphie von Arzneistoffen und ihre Bedeutung in der pharmazeutischen Technologie, *Informationsdienst A.P.V.*, **2**, 73-91 (1973).
- 3) J. Bernstein, Conformational polymorphism, *Stud. Org. Chem.* (Amsterdam), **32** (Org. Solid Statd Chem.), 471-518 (1987).
- 4) M. Kitamura, Polymorphism in crystallization, *Kagaku kogaku*, **55**, 263-264 (1991).
- 5) J. Halebian and W. McCrone, Pharmaceutical applications of polymorphism, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 911-929 (1969).
- 6) W. C. Kind, P. Varlashkin and C. Li, The applicability of powder x-ray diffraction to the quantification of drug substance polymorphs using a model organic system, *Powder Diffr.*, **8**, 180-187 (1993).
- 7) J. Bernstein, Polymorphism and the investigation of structure-property relations in organic solids, *Int. Union Crystallogr. Crystallogr. Symp.*, **4** (Org. Cryst. Chem.), 6-26 (1991).
- 8) F. Bayard, C. Decoret and J. Royer, Structural aspects of polymorphism and phase transition in organic molecular crystals, *Stud. Phys. Theor. Chem.*, **69** (Struct. Prop. Mol. Cryst.), 211-234 (1990).
- 9) N. Kaneniwa, M. Otsuka, T. Yamaguchi, T. Hayashi, K. Hayashi, T. Matsumoto, N. Watari and O. Unezawa, Preparation of polymorphs of some crystalline drug powders, *Funsai*, **33**, 30-41 (1989).
- 10) Y. T. Sohn and E. H. Lee, Crystal forms of cefazolin sodium hydrates, *Yakhak Hoeji*, **40**, 306-310 (1996).
- 11) Y. T. Sohn and S. Y. Kim, Study on polymorphism of cephalixin, *Duksung Bull. Pharm. Sci.*, **7**, 1-8 (1996).
- 12) Y. T. Sohn and S. H. Park, Effects of crystal modification of cephalothin sodium on dissolution and stability, *Yakhak Hoeji*, **41**, 321-327 (1997).
- 13) Y. T. Sohn and H. K. Kim, Dissolution of crystal forms of cefotaxime sodium, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 81-85 (1998).
- 14) Y. T. Sohn and J. S. Kim, Effects of crystal forms on dissolution of cephradine, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 115-119 (1998).
- 15) E. Yourassowsky, M. P. Van der Linden and F. Crokaert, Comparative kill and growth rates determined with cefdinir and cefaclor and with *Streptococcus pneumoniae* and β -

- lactamase-producing *Haemophilus influenzae*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **36**, 46-49 (1992).
- 16) M. Kuhnert-Brandstaetter, A. Burger and R. Voellenkle, Stability behaviour of piroxicam polymorphs, *Sci. Pharm.*, **62**, 307-316 (1994).
- 17) D. Giron, Application of thermal analysis in the pharmaceutical industry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **4**, 755-770 (1986).
- 18) A. Burger, Zur Interpretation von Polymorphie-untersuchungen, *Acta Pharm. Technol.*, **28**, 1-20 (1982).
- 19) A. Burger and K. T. Koller, Polymorphism and pseudopolymorphism on nifedifine, *Sci. Pharm.*, **64**, 293-301 (1996).
- 20) H. Zhu, B. E. Padden, E. J. Munson and D. J. W. Grant, Physicochemical characterization of nedocromil bivalent metal salt hydrates. 2. Nedocromil zinc, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 418-429 (1997).
- 21) A. David, E. Balogh, G. Csoka and I. Racz, Methodological aspects of examination of the polymorphism of vincristine sulfate, *Sci. Pharm.*, **64**, 311-318 (1996).
- 22) M. R. Caira, M. Zanol, T. Peveri, A. Gazzaniga and F. Giordano, Structural characterization of two polymorphic forms of piroxicam pivalate, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1608-1614 (1998).