

## Camptothecin 유도체의 결정형

손영택<sup>†</sup> · 문현영

덕성여자대학교 약학대학

(2002년 4월 1일 접수 · 2002년 4월 29일 승인)

### Crystal Form of A Camptothecin Derivative

Young Taek Sohn<sup>†</sup> and Hyun Young Moon

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

(Received April 1, 2002 · Accepted April 29, 2002)

**ABSTRACT**—Three polymorphic modifications of CKD-602, water soluble derivative of camptothecin, were obtained by the recrystallization from different organic solvents and characterized by differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA) and X-ray powder diffraction (XRPD). The major endothermic peaks of the DSC curve of Form 1, Form 2 and Form 3 was shown at 268.71°C, 247.83°C, 244.76°C, respectively. Form 2 was elucidated to be an acetic acid solvate and Form 3 was elucidated to be a methanol solvate. The dissolution patterns of these three modifications were also checked in distilled water at 37 ± 0.5°C, for 30 minutes. The polymorphic modifications showed differences in the dissolution rate. The dissolution rate of Form 1 was faster than that of other polymorphic modifications. When stored at different relative humidity over the period of 3 months, all of the polymorphic modifications did not undergo transformation.

**Keywords**—CKD-602, Polymorphism, Transformation, Recrystallization, DSC, TGA, XRPD

하나의 화합물질이 한가지 이상의 결정격자 배열을 가질 수 있는 현상을 다형(polymorphism)이라 하고, 이러한 화합물질을 polymorph라 하며, 각각의 결정 구조들을 형(modification, form)이라 한다.<sup>1-5)</sup> Polymorphism은 결정의 외부형태인 crystal habit이 아닌 결정의 내부구조를 의미하는 것으로, 각 polymorphic modification들은 결정격자 내에서의 분자간의 거리가 다르므로<sup>6,7)</sup> 용점이 각기 다르며 안정성, 용출속도, 진밀도, 결정형태, 증기압, 고체상태에서의 안정성 등의 물리화학적 성상이 다르게 나타난다.<sup>8,9)</sup> 하지만, polymorphic modification들은 화학적으로 동일한 물질이기 때문에 약리 효과는 동일하나 위에서 언급한 물리적인 성상이 다르며 따라서 신약 개발시 약물의 preformulation study에서 빼놓을 수 없는 중요한 물성중의 하나이다.<sup>10)</sup>

본 연구실에서는 cephalosporin계 항생물질<sup>11-16)</sup>을 비롯하여 여러 약물<sup>17-23)</sup>의 다형에 대하여 계속 연구하여 이 분야 연구경험을 축적시켜 왔으며, 개발중인 약물의 물성연구 차원에서도 축적된 연구경험이 있으므로<sup>24-25)</sup> 종근당에서 개발 중인 CKD-602를 대상으로 하여 재결정법으로 polymorphic modification들을 제조하고 이들을 확인하기 위하여 DSC,<sup>26-27)</sup>

X-ray Powder Diffractometer<sup>26-29)</sup>를 이용하였고 그 polymorphic modification들의 용출속도를 측정하여 polymorphic modification들의 존재와 그것이 용출에 미치는 영향을 보고자 하였다.

### 실험방법

#### 시약 및 기기

CKD-602는 종근당에서 기증 받아 사용하였다. HPLC용 water를 사용하였고 실험에 사용된 용매는 특급시약을 사용하였다. 기기로는 differential scanning calorimeter (Mettler Toledo Star System, Swiss), Thermogravimetric Analysis (SEIKO I SSC-5000, Japan), UV/VIS spectrophotometer (8452A diode-array spectrophotometer, Hewlett Packard, USA), X-ray crystallography powder diffractometer (Rigaku DMA S-III A, Japan), dissolution tester (Duksan Pure Chemical Co., Korea)를 사용하였다.

#### Polymorphic modification의 제조

(1) Form 1—CKD-602 130 mg을 실온에서 dimethyl sulfoxide(DMSO) 15 ml에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 후 실온에서 2주간 방치하여 결정을 얻고 이 결정을 실리카겔

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)901-8385, E-mail : ytsohn@center.duksung.ac.kr

데시케이터에서 3일간 실온 건조하였다.

(2) Form 2-CKD-602 130 mg을 실온에서 acetic acid 15 ml에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 후 실온에서 2주간 방치하여 결정을 얻고 이 결정을 실리카겔 데시케이터에서 3일간 실온 건조하였다.

(3) Form 3-CKD-602 130 mg을 methanol 75 ml에 40°C로 가열하여 용해시켜 투명한 용액을 얻은 후 -73°C에서 2주간 방치하여 결정을 얻고 이 결정을 실리카겔 데시케이터에서 3일간 실온 건조하였다.

### Polymorphic modification들의 확인

위에서 제조한 각 modification들을 HPLC용 water에 용해시켜 UV/VIS spectrophotometer로 측정하여 화학적으로 동일한 물질인지를 확인하였다. 또한 DSC, TGA, X-ray crystallography를 이용하여 각 modification들이 서로 다른 polymorphic modification인가를 확인하였다.

DSC 분석조건 : 냉매는 물을 사용했으며 시료를 Al crucible로 sealing했고 reference로는 공기가 채워진 Al crucible을 사용했고 측정 temperature range는 30~300°C이었으며 heating rate는 10°C/min이었고 sampling interval은 1 second였다.

TGA 분석조건 : 시료를 Al crucible로 sealing했고 측정 temperature range는 30~300°C이었으며 heating rate는 10°C/min이었다.

X-ray crystallography 분석조건 : angle range는 5~35°이었고 angle zoom: 5, smoothing : 5, peak width : 5, peak steep : 5의 조건이었고 Ni filter를 사용했으며 30 kV, 20 mA에서 측정하였다.

### 용출시험

사별법으로 입자의 크기(250~600 μm)를 일정하게 한 후, 검체 3.5 mg을 취하여 대한약전 제7개정판 용출시험법의 제2법인 패들법으로 시험하였다. 시험액은 HPLC용 증류수를 사용하였고, 시험액의 온도는 37±0.5°C에서 98 rpm의 조건으로 실험하였다. 채취시간은 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 15, 30분 간격으로 1 ml의 시료를 취하고, 미리 같은 온도로 가온한 새로운 시험액을 동량 가하여 보충하였다. 시험액을 blank로 하고 채취액을 370 nm에서 UV absorbance를 측정하여 미리 작성한 검량곡선으로부터 용출량을 산출하였다.

### 저장중의 형전환

CKD-602의 polymorphic modification들을 0% RH(silica gel desiccator), 95% RH(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O), 75% RH(NaClO<sub>3</sub>)

에서 각각 3개월간 보관한 후 형전환여부를 DSC, TGA, XRPD로 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### Polymorphic modification들의 확인

제조된 각 modification들의 분해여부를 확인하기 위하여 UV scanning을 행한 결과, 3개의 modification 모두 370 nm에서 최대흡광도를 보여 화학적으로 동일한 물질임을 확인할 수 있었다.

DSC 분석 결과, Form 1은 268.71°C에서 endothermic peak가 나타났다(Figure 1). Form 1의 TGA 측정결과가 Figure 2에 있다. Form 2는 Figure 3에서 보듯이 247.83°C에서 endothermic peak가 나타났으며 140°C에서 180°C에 걸쳐 또 하나의 endothermic peak가 나타났다. Form 2의

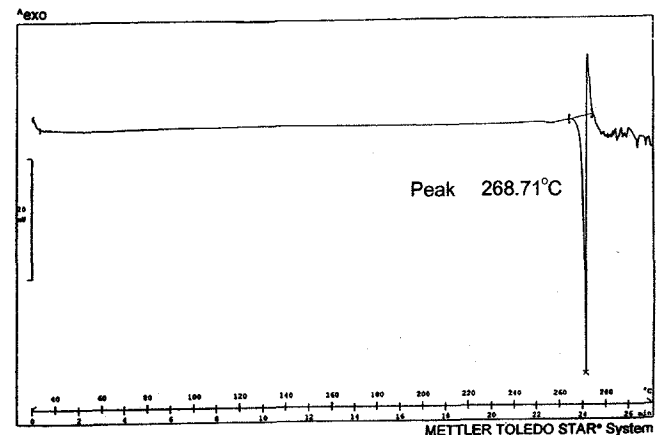


Figure 1-DSC curve of Form 1.

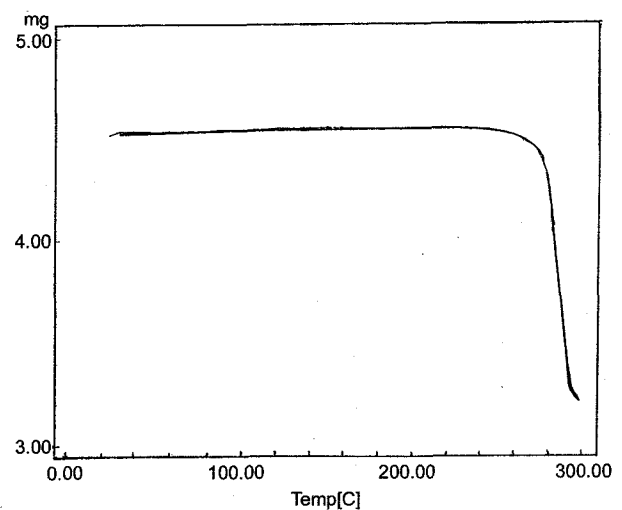


Figure 2-TGA curve of Form 1.

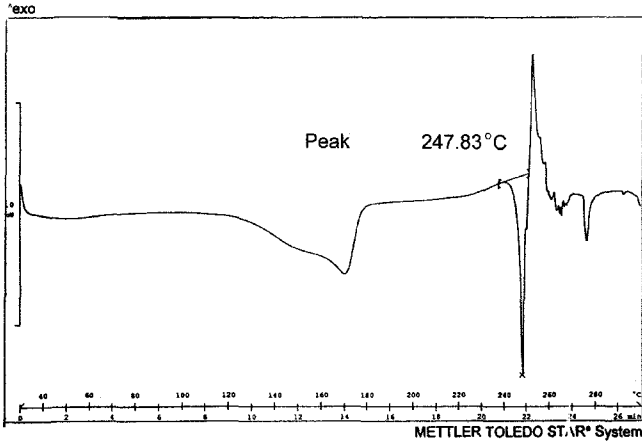


Figure 3-DSC curve of Form 2.

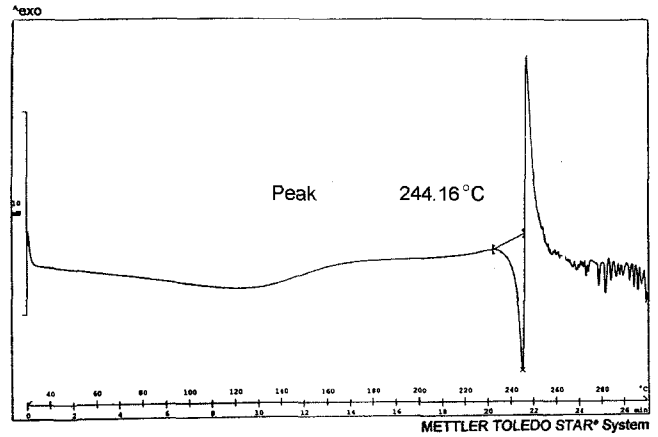


Figure 5-DSC curve of Form 3.

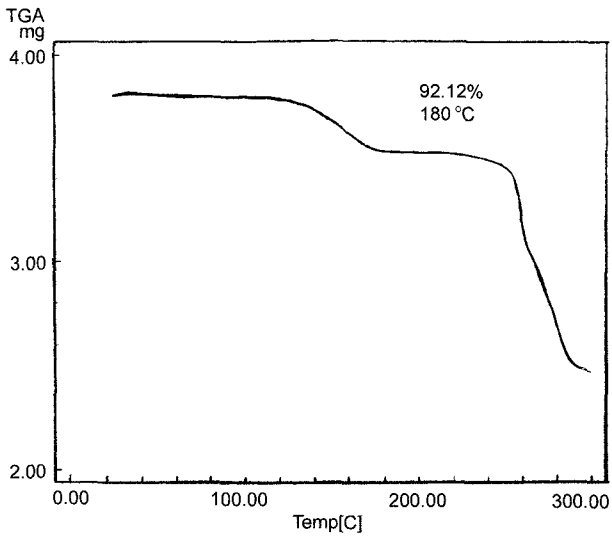


Figure 4-TGA curve of Form 2.

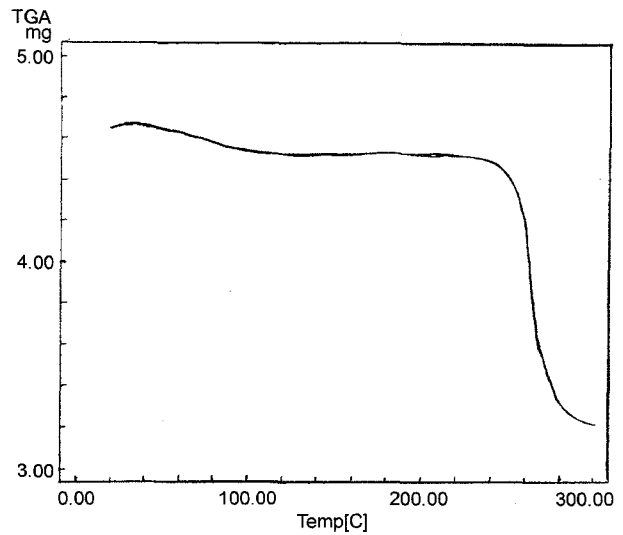


Figure 6-TGA curve of Form 3.

TGA 측정결과가 Figure 4에 있으며 140°C에서 180°C까지 7.88%의 중량감소를 나타내는 바, 이는 Form 2가 acetic acid 1/2 분자의 solvate라는 반증이며 따라서 DSC 측정결과인 Figure 3의 140°C에서 180°C까지의 endothermic peak가 acetic acid 1/2분자의 desolvation에 기인한다는 것을 알 수 있다.

Form 3은 244.76°C에서 endothermic peak가 나타나며 40°C에서 100°C에 걸쳐 또 하나의 endothermic peak가 나타났다(Figure 5). Form 3의 TGA 측정결과가 Figure 6에 있으며 90°C에서 120°C까지 2.87%의 중량감소를 나타내는 바, 이는 Form 3이 methanol 1/2 분자의 solvate라는 반증이며 따라서 DSC 측정결과인 Figure 5의 40°C에서 100°C까지의 endothermic peak가 methanol 1/2 분자의 desolvation에 기인한다는 것을 알 수 있다.

Form 1, 2, 3의 X-ray crystallography 측정결과를 Figure 7~9에 나타내었다. 이 결과로 보아 DSC와 TGA 측정결과에서 나타난 대로 Form 1, 2, 3이 서로 다른 결정형을 확인할 수 있었으며 동일한 제조방법, 조건에서 반복 제조해 본 결과, 각 modification은 재현성이 있는 것으로 판명되었다.

#### 용출시험

1, 3, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30분에 채취한 용액을 370 nm에서 UV absorbance를 측정하여 그 결과로 산출한 약물의 용출양상을 Figure 10에 나타내었다.

#### 저장중의 형전환

상대습도 0%, 95%, 75%에서 각각 3개월간 보관한 후

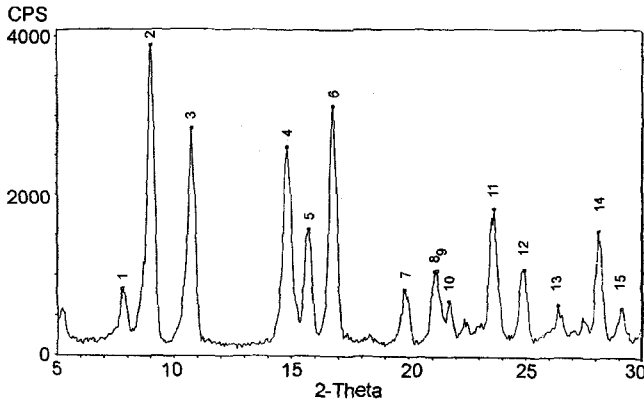


Figure 7-X-ray crystallographic pattern of Form 1.

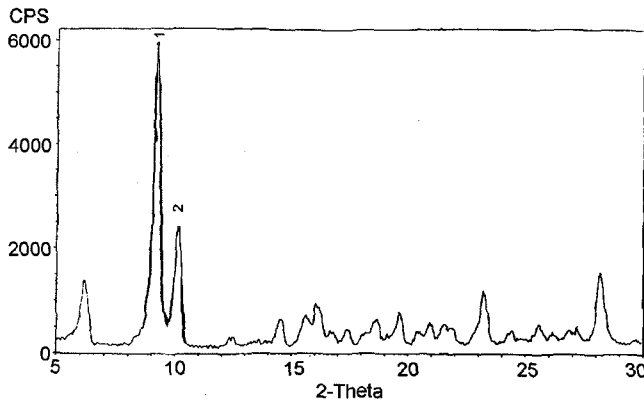


Figure 8-X-ray crystallographic pattern of Form 2.

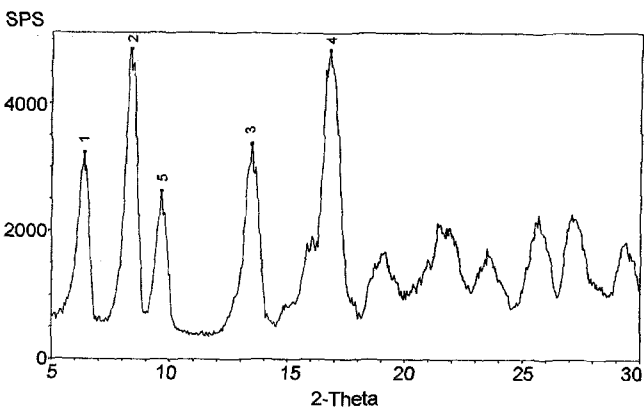


Figure 9-X-ray crystallographic pattern of Form 3.

형전환여부를 DSC를 통해 분석하였으나 변화가 없었다.

### 결론

CKD-602의 3가지 modification들을 제조하였고 DSC, TGA, XRPD로 측정하여 이들이 서로 다른 결정격자 배열

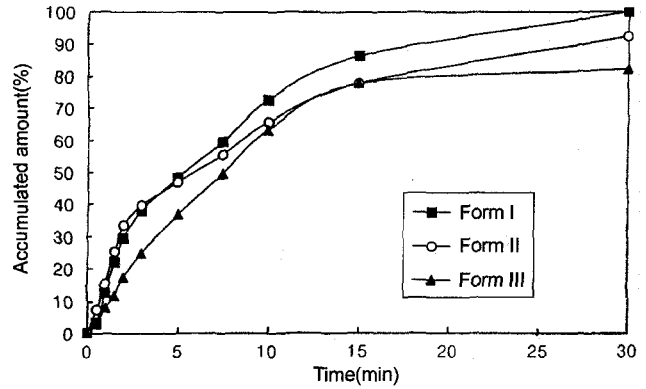


Figure 10-Dissolution pattern of 3 polymorphic modifications of CKD-602.

을 갖는 polymorphic modification이라는 것을 확인할 수 있었다.

이렇게 하여 얻어진 3개의 polymorphic modification들의 용출실험 결과, Form 1은 30분 후의 용출률이 100%로 모두 용출되었다. Form 2는 30분 후의 용출률이 92.3%이었으며 Form 3의 경우 30분 동안 용출률은 82%로 나타나 3개의 polymorphic modification들의 용출은 차이가 있었다. 3분까지는 Form 2가 Form 1 보다 용출이 잘 되지만 5분부터는 이 양상이 역전되어 Form 1의 용출률이 Form 2의 그것을 능가하는 양상을 나타내었다.

용출률은 Form 1 > Form 2 > Form 3의 순서로 나타났으며 15분에는 Form 2와 Form 3의 용출률이 같았다.

상대습도 0%, 95%, 75%에서 각각 3개월간 보관한 후에도 형전환은 되지 않았다.

### 감사의 말씀

본 연구는 2001년도 덕성여자대학교 약학연구소 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

### 문헌

- 1) Y. T. Sohn, Pharmaceutical application of polymorphism, *Pharmakon*, **21**, 500-516 (1981).
- 2) B. D. Sharma, Allotropes and polymorphs, *J. Chem. Educ.*, **64**, 404-407 (1987).
- 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) E. F. Fieser and T. A. Hagen : Preformulation : In *Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, L. Lachman, H. A. Lieberman and J. L. Kanig(Eds.), 3rd Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, pp171 (1986).
  - 11) Y. T. Sohn and S. Y. Kim, Study on polymorphism of cephalexin, *Duksung Bull. Sci.*, **7**, 1-8 (1996).
  - 12) Y. T. Sohn and E. H. Lee, Crystal form of cephazoline sodium hydrate, *Yakhak Hoeji*, **40**, 306-310 (1996).
  - 13) Y. T. Sohn and S. H. Park, Effects of crystal modification of cephalothin sodium on dissolution and stability, *Yakhak Hoeji*, **41**, 321-327 (1997).
  - 14) Y. T. Sohn and J. S. Kim, Effect of crystal form on dissolution of cephradine, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 115-119 (1998).
  - 15) Y. T. Sohn and H. K. Kim, Dissolution of crystal form of cephotaxime sodium, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 81-85 (1998).
  - 16) Y. T. Sohn and I. J. Chun, Crystal form of cefaclor, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 201-206 (2000).
  - 17) A. Bauer-Brandl and Y. T. Sohn, Crystal modifications of cimetidine: Characterization and evaluation for manufacturing of dosage forms, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **40(Suppl.)**, 6S (1994).
  - 18) Y. T. Sohn, Effect of polymorphism on bioavailability of amoxicillin, *Yakhak Hoeji*, **39**, 438-443 (1995).
  - 19) Y. T. Sohn, M. S. Park and S. K. Kwon, Polymorphism of biphenyldimethyldicarboxylate, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **26**, 193-199 (1996).
  - 20) Y. T. Sohn and S. H. Jung, Effect of crystal form on dissolution and stability of droperidol, *Yakhak Hoeji*, **40**, 375-381 (1996).
  - 21) Y. T. Sohn, Dissolution and transformation of crystal form of piroxicam, *Yakhak Hoeji*, **40**, 513-521 (1996).
  - 22) Y. T. Sohn and B. Y. Um, Dissolution of crystal form of glibenclamide, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **27**, 233-239 (1997).
  - 23) Y. T. Sohn, J. K. Lee and W. B. Im, Polymorphism of clarithromycin, *Arch. Pharm. Res.*, **23**, 381-384 (2000).
  - 24) Y. T. Sohn and K. E. Lee, Crystal form of SKP1080, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 289-293 (1998).
  - 25) Y. T. Sohn and H. R. Chun, Polymorphism of Q-35 (Balofloxacin), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **31**, 119-123 (2001).
  - 26) A. Burger, Zur Interpretation von Polymorphie-untersuchungen, *Acta Pharm. Technol.*, **28**, 1-20 (1982).
  - 27) A. Burger and K. T. Koller, Polymorphism and pseudopolymorphism on nifedipine, *Sci. Pharm.*, **64**, 293-301 (1996).
  - 28) 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).
  - 29) 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).