

프레드니솔론의 용출에 미치는 결정형의 영향

손영택[†] · 도의선

덕성여자대학교 약학대학

(2003년 3월 17일 접수 · 2003년 5월 2일 제심사 · 2003년 6월 7일 승인)

Effect of Crystal Form on Dissolution of Prednisolone

Young Taek Sohn[†] and Eui Sun Do

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

(Received March 17, 2003 · Revised May 2, 2003 · Accepted June 7, 2003)

ABSTRACT—Four different crystal forms of prednisolone, two polymorphic forms and two pseudopolymorphic forms, were obtained by the recrystallization from different organic solvents under varying conditions. The isolated crystal forms were characterized by differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA) and X-ray powder diffraction (XRD). Form 1 was the most stable form that had the highest melting point and melt at 250.1°C. Form 2 was a monohydrate and Form 3 was a methanol solvate. The endothermic peak of Form 4 was shown at 230.2°C. When stored at different relative humidity over the period of 3 months, all of the modifications did not undergo transformation. The dissolution patterns of these four modifications were also checked in distilled water at 37±0.5°C, for 120 minutes. The dissolution rate of Form 4 was highest and those of Form 3, Form 2, Form 1 followed. Form 2, Form 3 and Form 4 had higher dissolution rate than Form 1.

Keywords—Prednisolone, Polymorphism, Pseudopolymorphism, Transformation, Recrystallization, DSC, TGA, XRD, Dissolution

하나의 화학물질이 하나 이상의 결정격자 배열을 가질 수 있는 현상을 다형(polymorphism)이라 하고, 이러한 화학물질을 polymorph라 하며, 각각의 결정 구조들을 형(modification, form)이라 한다.¹⁻⁵⁾ Polymorphism은 결정의 외부형태인 crystal habit이 아닌 결정의 내부구조를 의미하는 것으로, 각 polymorphic modification들은 결정격자 내에서의 분자간의 거리가 다르므로^{6,7)} 용점이 각기 다르며 용해도, 용출속도, 고체 상태에서의 안정성 등의 물리화학적 성상이 다르게 나타난다.^{8,9)} Polymorphic modification들은 화학적으로 동일한 물질이지만 물리적인 성상은 다르며 따라서 polymorphism은 신약 개발시 주약의 preformulation study에서 빼놓을 수 없는 중요한 연구대상¹⁰⁾이며 이미 시판되고 있는 활성성분의 물성 개선에 있어서도 polymorphism은 반드시 연구해야 하는데 사용빈도가 대단히 높은 물질인 프레드니솔론의 polymorphism에 대하여는 현재까지 단지 1번 보고되었을 뿐¹¹⁾이다.

본 연구실에서는 cephalosporin계 항생물질¹²⁻¹⁶⁾을 비롯하여 여러 약물¹⁷⁻²³⁾의 다형에 대하여 계속 연구하여 이 분야 연구경험을 축적시켜 왔으므로 프레드니솔론을 대상으로 하여 재결정법으로 polymorphic modification과 pseudopoly-

morphic modification들을 제조하고, DSC,²⁴⁻²⁵⁾ TGA, X-ray Powder Diffractometer²⁴⁻²⁷⁾를 이용하여 이들의 존재를 확인하고, 이들의 용출속도를 측정하여 결정형들의 존재와 용출에 미치는 이들의 영향을 연구하였다.

실험방법

시약 및 기기

프레드니솔론은 (주)유한양행에서 기증받아 사용하였다. HPLC용 water를 사용하였고 실험에 사용된 용매는 특급시약을 사용하였다. 기기로는 differential scanning calorimeter (Mettler Toledo System, Swiss), Thermogravimetric Analyzer (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 (Erweka DT-D, Germany)를 사용하였다.

결정형들의 제조

(1) Form 1

(주)유한양행에서 기증받은 프레드니솔론 시료를 실리카겔 데시케이터, 0°C에서 건조하였다.

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

(2) Form 2

Form 1 300 mg을 실온에서 ethanol 15 ml에 포화용해시키고 같은 부피의 증류수를 가하여 실온에서 재결정시켰다. 얻어진 결정을 실리카겔 데시케이터에서 건조시켰다.

(3) Form 3

Form 1 300 mg을 70% methanol 20 ml에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 후 4°C를 유지하면서 서서히 재결정시켰다. 얻어진 결정을 oven에서 50°C로 24시간 건조시켰다.

(4) Form 4

Form 1 300 mg을 ethanol 10 ml에 용해시켜 투명한 용액을 얻은 후 -20°C를 유지하면서 수일간 서서히 재결정시켰다. 얻어진 결정을 실리카겔 데시케이터에서 건조시켰다.

결정형들의 확인

위에서 제조한 결정형들을 HPLC용 water에 용해시켜 UV/VIS spectrophotometer로 측정하여 화학적으로 동일한 물질인지를 확인하였다. 또한 DSC, TGA, X-ray crystallography를 이용하여 결정형들이 서로 다른 polymorphic modification 또는 pseudopolymorphic modification들인가를 확인하였다.

DSC 분석조건-냉매는 물을 사용했으며 시료를 Al crucible로 sealing했고 reference로는 공기가 채워진 Al crucible을 사용했고 측정 temperature range는 40~300°C이었으며 heating rate는 10°C/min이었고 sampling interval은 1 second였다.

TGA 분석조건-시료를 Al crucible로 sealing했고 측정 temperature range는 40~300°C이었으며 heating rate는 10°C/min이었다.

X-ray crystallography 분석조건-Angle range는 5~50°이었고 angle zoom: 3, smoothing : 5, peak width: 5, peak steep: 5의 조건이었고 Ni filter를 사용했으며 30 kV, 20 mA에서 측정하였다.

용출시험

사별법으로 입자의 크기(250~500 μm)를 일정하게 한 후, 검체 5 mg을 취하여 대한약전 용출시험법의 제2법인 패들법으로 시험하였다. 시험액은 HPLC용 증류수를 사용하였고, 시험액의 온도는 37±0.5°C에서 300 rpm의 조건으로 실험하였다. 채취시간은 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120분 간격으로 1 ml의 시료를 취하고, 미리 같은 온도로 가온한 새로운 시험액을 동량 가하여 보충하였다. 시험액을 blank로 하고 채취액을 242 nm에서 UV absorbance를 측정하여 미리 작성한 검량곡선으로부터 용출량을 산출하였다.

저장중의 형전환

프레드니솔론의 결정형들을 52% RH와 98% RH의 조건에서 각각 3개월간 보관한 후 형전환여부를 DSC, TGA, XRD로 확인하였다.

결과 및 고찰

결정형들의 확인

제조된 결정형들의 분해여부를 확인하기 위하여 UV scanning을 행한 결과 4개의 결정형 모두 UV pattern에 하등의 변화가 없음을 확인하였으며 따라서 화학적으로 동일한 물질임을 확인할 수 있었다.

DSC 분석 결과, Form 1은 250.1°C에서 endothermic peak가 나타났으며(Figure 1), Form 1의 TGA 측정결과가 Figure 2에 있는 바, 중량변화는 없었다. Form 1의 XRD 측정결과는 Figure 3에 있다. Form 2는 Figure 4에서 보듯

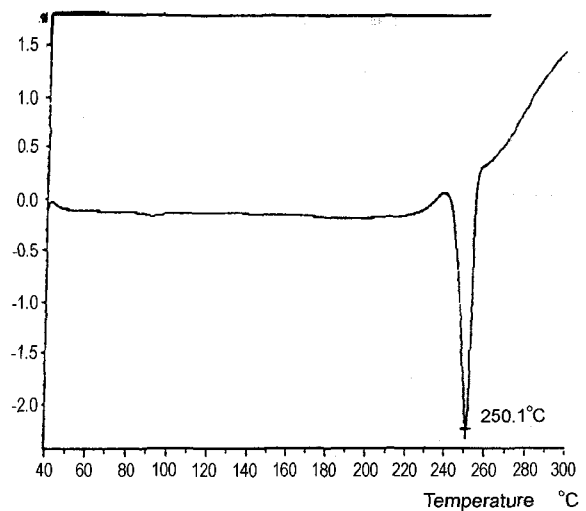


Figure 1—DSC curve of Form 1.

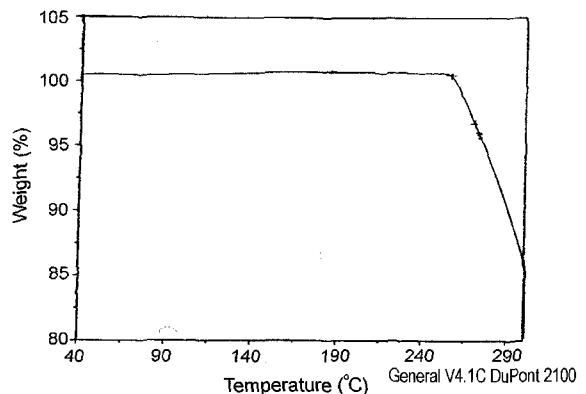


Figure 2—TGA curve of Form 1.

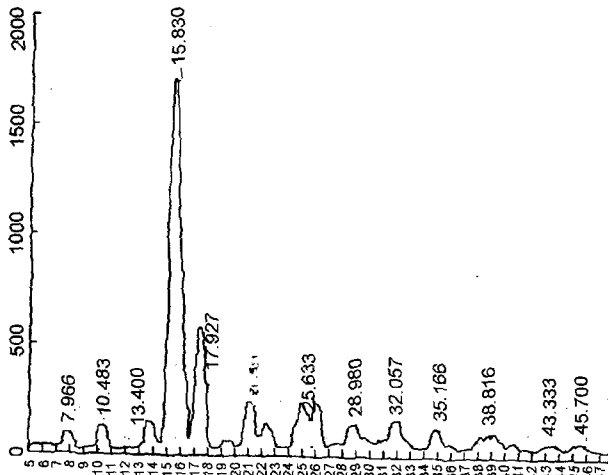


Figure 3-X-ray crystallographic pattern of Form 1.

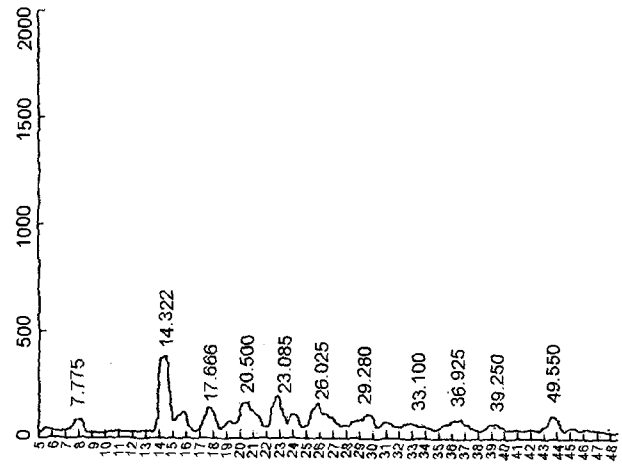


Figure 6-X-ray crystallographic pattern of Form 2.

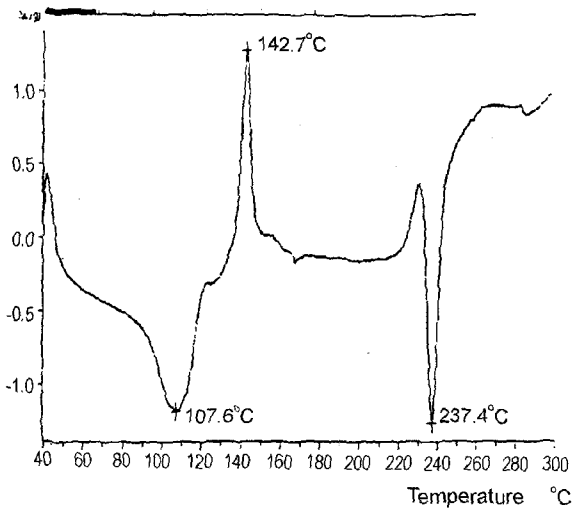


Figure 4-DSC curve of Form 2.

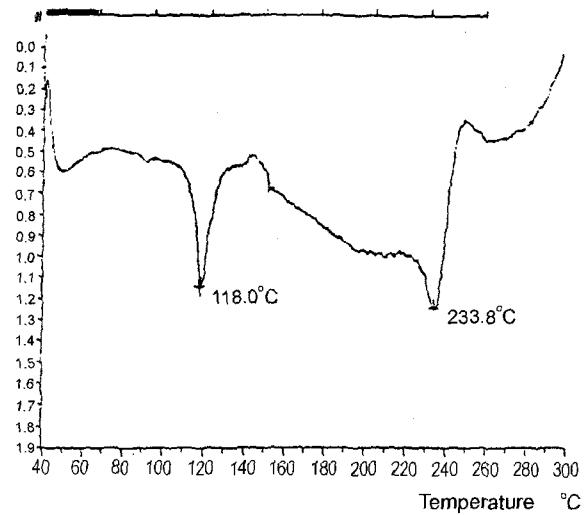


Figure 7-DSC curve of Form 3.

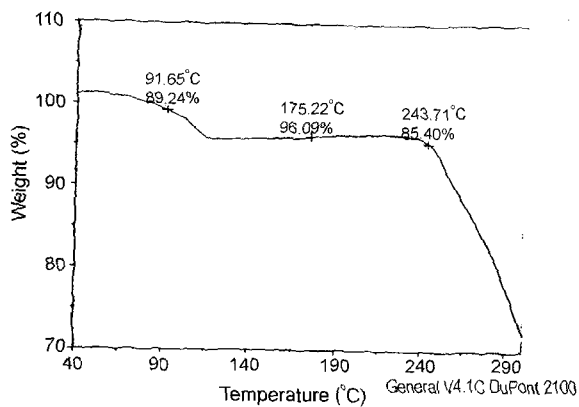


Figure 5-TGA curve of Form 2.

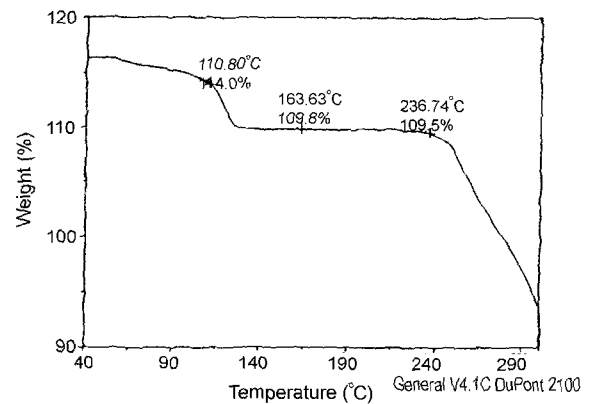


Figure 8-TGA curve of Form 3.

이 107.6°C와 237.4°C에서 2개의 endothermic peak가 나타났으며 142.7°C에서는 exothermic peak를 나타냈다. TGA 분석결과(Figure 5) 첫 번째 endothermic peak와 같은 온도인

107.6°C에서 중량감소가 나타났으며 이는 H₂O 1분자에 해당하므로 Form 2는 monohydrate라는 것을 확인할 수 있었다. Form 2의 XRD 측정결과는 Figure 6에 있다.

Form 3은 118°C와 233.8°C에서 endothermic peak가 나타났다(Figure 7). Form 3의 TGA 측정결과가 Figure 8에 있으며 첫 번째 endothermic peak와 같은 온도인 118°C에서 중량감소를 보였고 계산결과 1:5 methanol:prednisolone solvate로 확인되었다. Form 3의 XRD 측정결과는 Figure 9에 있다.

Form 4는 230.2°C에서 endothermic peak가 나타났으며(Figure 10), Figure 11의 TGA 분석결과에서 보듯이 중량변화는 없었다. Form 4의 XRD 측정결과는 Figure 12에 있다.

동일한 제조방법, 조건에서 결정형들을 반복 제조해 본 결과 재현성이 있는 것으로 판명되었다.

용출시험

5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120분 간격으로 1 ml의 시료를 취하여 242 nm에서 UV absorbance를 측

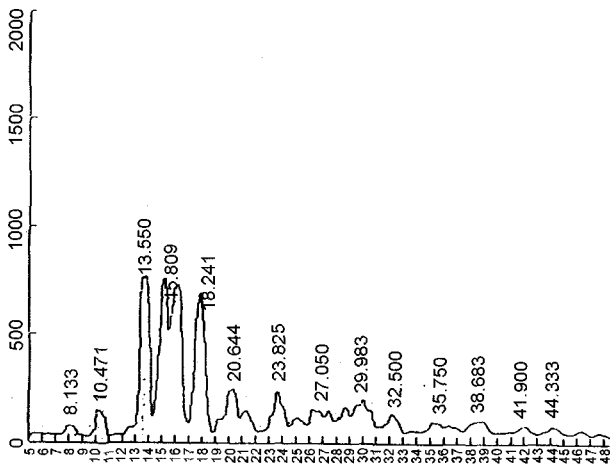


Figure 9-X-ray crystallographic pattern of Form 3.

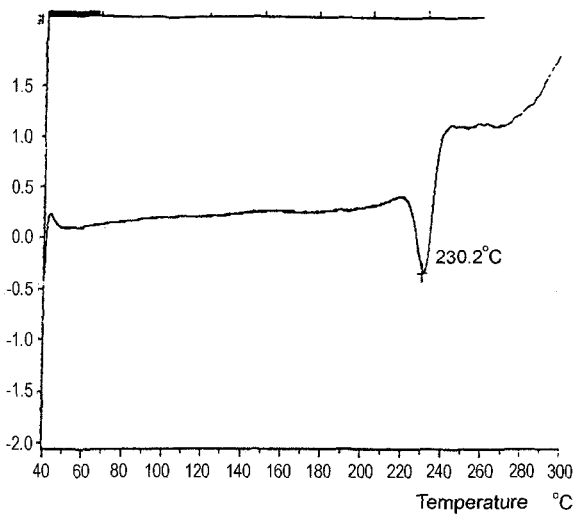


Figure 10-DSC curve of Form 4.

정하여 그 결과로 산출한 약물의 용출양상을 Figure 13에 나타내었다. Form 4는 40분 후의 용출률이 100%로 모두 용출되었으며 Form 3은 50분후의 용출률이 100%로 모두 용출되었다. Form 2는 60분 후에도 100% 다 용출되지 않았으며 그 다음이 Form 1의 순으로 이상 4개의 결정형들의

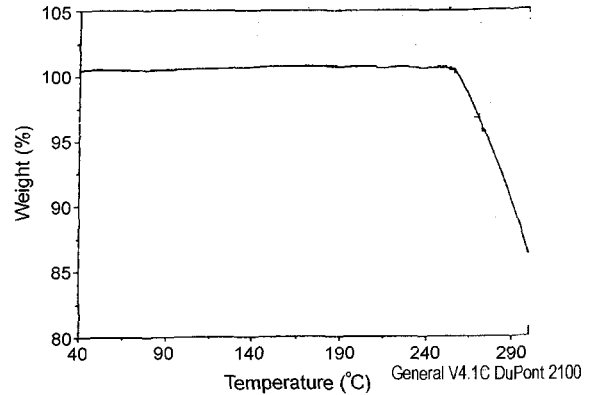


Figure 11-TGA curve of Form 4.

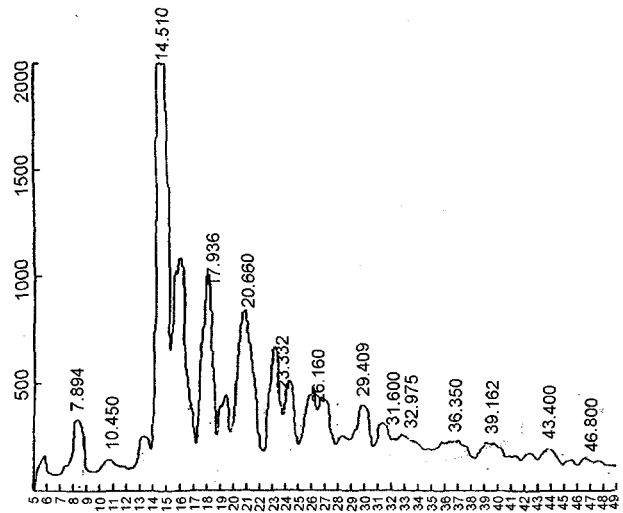


Figure 12-X-ray crystallographic pattern of Form 4.

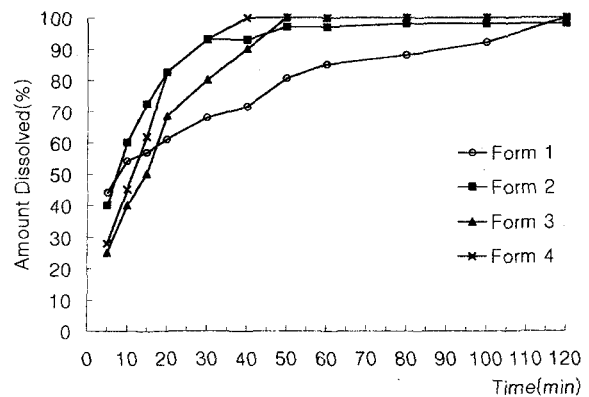


Figure 13-Dissolution pattern of 4 modifications of prednisolone.

용출은 상당히 차이가 있었다.

저장중의 형전환

52% RH와 98% RH의 조건에서 3개월간 보관한 후 형전환여부를 DSC, TGA, XRD로 분석하였으나 변화가 없었다.

결 론

프레드니솔론의 4가지 결정형들을 제조하였고 DSC, TGA, XRD로 측정하여 이들이 서로 다른 polymorphic modification 또는 pseudopolymorphic modification이라는 것을 확인할 수 있었다.

이렇게 하여 얻어진 4개의 결정형들의 용출실험 결과, 4개의 결정형들의 용출은 상당히 차이가 있었으며 Form 4 > Form 3 > Form 2 > Form 1의 순이었다.

52% RH와 98% RH의 조건에서 3개월간 보관한 후에도 형전환은 되지 않았다.

감사의 말씀

본 연구는 2002년도 덕성여자대학교 약학연구소 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Y. T. Sohn, Pharmaceutical application of polymorphism, *Pharmacon*, **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. Haleblan 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. Fiess 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) D. E. Wouster and W. Taylor Jr., Dissolution kinetics of certain crystalline forms of prednisolone, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 670-676 (1965)
- 12) Y. T. Sohn and E. H. Lee, Crystal form of cephalosin 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 cephadrin, *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 biphenyldimethyldicarboxy late, *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) A. Burger, Zur Interpretation von Polymorphie-untersuchungen, *Acta Pharm. Technol.*, **28**, 1-20 (1982).
- 25) A. Burger and K. T. Koller, Polymorphism and pseudopolymorphism on nifedifine, *Sci. Pharm.*, **64**, 293-301 (1996).
- 26) 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).
- 27) 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).